

## Enterocolitis necrotizante neonatal: Etiopatogenia y prevención

Mónica Contador MN.<sup>1</sup>; Fernando Moya V.<sup>2</sup>

### Neonatal necrotizing enterocolitis: pathogenesis and prevention

The pathogenesis of necrotizing enterocolitis seems to be multifactorial. There are probably two different forms of the disease: one in preterm infants and another one in term newborns, in both of which those factors may have different weights. In the first case, prematurity together with immaturity of the bowel and of the immune response may play an important role, while in the second one, hypoxic phenomena may be more relevant. Although some studies suggest that inflammatory mediators, specially platelet activating factor, participate in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis, there is not enough data in humans in order to determine if their appearance is a cause or an effect of the disease process. Further investigation is needed to get a better understanding of the pathogenesis of this disease from which new methods of prevention and management may emerge.

(**Key words:** enterocolitis, necrotizing, prematurity.)

La enterocolitis necrotizante es una emergencia de origen intraabdominal que afecta principalmente a recién nacidos prematuros en las unidades de cuidados intensivos neonatales. Sólo entre 5 y 20% de los casos ocurren en recién nacidos de término<sup>1,2</sup>. Su incidencia es de 0,3 a 2,4 x 1 000 nacidos vivos y, en series recientes, su letalidad oscila entre 9 y 28%. Entre 2 681 recién nacidos con peso de nacimiento < 1 500 g, la incidencia de sospecha de la lesión (enterocolitis necrotizante grado I, según Bell *et al*) fue 17,2%, mientras la de lesiones comprobadas (grado II y III) fue 10,1%; la prevalencia variaba entre 3,9% y 22,4% en los distintos centros participantes. La letalidad en esa serie fue relativamente baja en RN con enterocolitis necrotizante grado I o II (9,7 y 7,6% respectivamente), cifra comparable a la de RN sin enterocolitis necrotizante (13,7%), pero fue mayor que 50% en los pacientes con grado III<sup>3-5</sup>. En Chile, la letalidad varía entre 5,5 y 50% del

conjunto de los RN con enterocolitis necrotizante, y entre 16 y 90% de los que se someten a intervención quirúrgica<sup>6-8</sup>.

### Etiopatogenia

La etiopatogenia de la afección no está claramente establecida. Han sido identificados algunos factores importantes para su desarrollo. Entre ellos: la inmadurez de la barrera mucosa intestinal producto de la prematuridad; la presencia de gérmenes enteropatógenos junto con sustratos metabólicos en el lumen intestinal, los que pueden lesionar directamente la mucosa y, finalmente, la isquemia intestinal, que actuaría indirectamente<sup>9</sup>.

La prematuridad pareciera ser el factor de mayor riesgo, pues a medida que disminuye la edad gestacional y el peso de nacimiento, aumenta su incidencia. La edad postnatal en la que la afección se presenta se relaciona también inversamente con la edad gestacional, ya que, en general, en los nacidos de término la enfermedad se desarrolla durante la primera semana después del parto, mientras en los de pretérmino ocurre más tarde<sup>5</sup>. Esto sugiere que los fenómenos perinatales implicados en la etiopatogenia

1. Departamento de Cirugía, División de Cirugía Pediátrica, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, USA.

2. Departamento de Pediatría, División de Neonatología, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, USA.

del trastorno, como los de hipoxia, podrían tener menos importancia en nacidos antes de término. De hecho, en nacidos al término con enterocolitis necrotizante, generalmente se identifican factores de riesgo como asfisia perinatal, enfermedades cardiovasculares, policitemia, distrés respiratorio, catéteres umbilicales, falla circulatoria o sepsis, entre otros. En cambio en niños pretérmino, la inmadurez del intestino y de los mecanismos de defensa del huésped podrían jugar un rol más preponderante.

La hipoxia ha sido señalada como factor de riesgo para enterocolitis necrotizante. Sin embargo, la fisiopatología de las lesiones producidas por ella en la mucosa no está clara. A pesar que no se ha podido demostrar una relación directa entre factores que producirían alteración de la circulación esplácnica, por ende hipoxia del intestino, y enterocolitis necrotizante, algunos hechos la sugieren. En primer lugar, las zonas más afectadas por las lesiones son íleon y colon ascendente, que corresponden a áreas de transición entre las irrigaciones proporcionadas respectivamente por las arterias mesentéricas superior e inferior. Además, los hallazgos histológicos en el intestino de pacientes con enterocolitis necrotizante son, principalmente, necrosis de coagulación, inflamación o sobre-desarrollo bacteriano, siendo la primera el hallazgo más frecuente, lo que sugiere un mecanismo isquémico<sup>10</sup>. Por otra parte, ratas recién nacidas alimentadas con fórmula enteral y que además han recibido un inóculo por vía oral de *Klebsiella*, desarrollan necrosis intestinal similar a la de enterocolitis necrotizante después de ser sometidas a hipoxia<sup>11</sup>. También se ha observado que el consumo de oxígeno está aumentado en el intestino de corderos recién nacidos durante la digestión, debido a un aumento de la extracción tisular de oxígeno y del flujo sanguíneo. Este intestino tiene menor resistencia vascular y mayor flujo sanguíneo en comparación con animales adultos, pero no muestra la hiperemia postprandial que ocurre en los últimos<sup>12</sup>. El alto requerimiento intestinal de oxígeno lo haría más susceptible a la hipoxia.

Se ha intentado esclarecer si el óxido nítrico (ON) participa en la patogenia de la enterocolitis necrotizante. Este compuesto es sintetizado a partir del aminoácido L-arginina por medio de la óxido nítrico sintetasa (ONS). Existen al menos dos tipos de ONS, una constitucional y una

inducible. La ONS constitucional se encuentra en células endoteliales, plaquetas, sistema nervioso central y periférico, y en la glándula suprarrenal. Las pequeñas cantidades de ON liberado por esta enzima actuarían regulando respuestas fisiológicas como vasodilatación, flujo sanguíneo y presión arterial, contribuyendo a la mantención de la barrera endotelial, controlando la filtración de líquidos y proteínas y participando en la modulación de la inhibición plaquetaria, entre otras acciones. La forma inducible de ONS sólo se produce en células activadas por citoquinas (macrófagos, fibroblastos, neutrófilos y células endoteliales). La principal acción conocida del ON producido por la segunda de estas enzimas es citotoxicidad para microorganismos y células tumorales; también podría participar en la hipotensión inducida por citoquinas y endotoxinas y en el daño tisular<sup>13</sup>. La asociación de hipoxia con la administración de endotoxina o lipopolisacárido (LPS) produce necrosis intestinal en ratas, probablemente por activación de la ONS inducible, ya que la inhibición selectiva de esta enzima protege contra la lesión producida por ellos<sup>14</sup>. El flujo sanguíneo es un estímulo para la liberación de ON en la arteria mesentérica de cerdos recién nacidos, manteniendo una resistencia vascular disminuida y un flujo sanguíneo intestinal aumentado y, por ende, mayor entrega de oxígeno en el tejido<sup>15</sup>. Sin embargo, los estudios en intestino de cerdos recién nacidos dan resultados contradictorios: Por una parte, el ciclo de isquemia y reperfusión reduce la producción de ON en la arteria mesentérica de cerdos de tres días de edad, pero la aumenta en los de treinta y cinco días<sup>16</sup>. Por otro lado, en cerdos recién nacidos sometidos a neumotórax para crear condiciones de asfisia, las concentraciones intestinales de ON más bien aumentan durante la fase de asfisia y de reperfusión temprana<sup>17</sup>. Luego, es necesario seguir investigando para delinear el rol del óxido nítrico en la patogenia de la enterocolitis necrotizante.

La producción de radicales libres de oxígeno en la fase de reperfusión del ciclo isquemia y reperfusión ha sido señalada como responsable directa del daño tisular en el intestino. Ellos iniciarían la adhesión de los leucocitos al endotelio de las venas, que ha sido descrita en tejidos sometidos a isquemia y posteriormente reperfundidos. Estos radicales se pueden formar con par-

ticipación de la enzima xantino-oxidasa (XO) o a partir de fagocitos activados<sup>18</sup>. Las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa transforman estos radicales en peróxidos de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y orgánicos. Todos estos factores abundan en el intestino de los animales adultos, en los cuales la liberación de radicales libres de oxígeno parece jugar un papel importante en la producción de lesiones intestinales causadas por el ciclo de isquemia y reperfusión. Sin embargo, en cerdos recién nacidos (de uno a treinta días) no se detecta actividad de la XO, la que se eleva posteriormente. En ellos la actividad de la peroxidasa en los granulocitos del intestino es baja y aumenta progresivamente con la edad. Más aún, la actividad catalasa de la mucosa no está presente, sugiriendo que, si bien el intestino neonatal tiene capacidad limitada para producir radicales libres de oxígeno, también está limitada la de detoxificarlos<sup>19</sup>. De hecho, los antioxidantes como la SOD humana previenen la necrosis intestinal producida por el ciclo de isquemia y reperfusión en asas de fleón de conejo<sup>20</sup>. La presencia de lípidos, sobre todo ácidos grasos, en el lumen intestinal puede amplificar la lesión de isquemia y reperfusión en estos animales, siendo esta respuesta mayor en el intestino neonatal que en el adulto<sup>21</sup>. Esto relacionaría la hipoxia y alimentación, ambos factores implicados en enterocolitis necrotizante.

La alimentación enteral también parece ser importante en el desarrollo de enterocolitis necrotizante. Más de 90% de los recién nacidos afectados han sido alimentados previamente. Más aún, la osmolaridad y el volumen de las fórmulas enterales empleadas y, especialmente, los lípidos contenidos en ellas podrían contribuir a ella.

La colonización bacteriana también sería otro factor en la enterocolitis necrotizante. El intestino del prematuro posee características que pudieran permitir el desarrollo de flora anormal: menor acidez gástrica, bajas concentraciones de enzimas proteolíticas, escasa motilidad intestinal y alteración en la composición de los carbohidratos de la barrera mucosa, que pudiesen contribuir a disminuir la defensa contra antígenos y bacterias intraluminales<sup>9</sup>. Numerosos agentes microbianos han sido relacionados con brotes epidémicos del trastorno, incluyendo bacterias gram positivas, *Clostri-*

*dium*, *Staphylococcus coagulasa* negativos y virus, como corona virus, entre otros. No obstante, no se ha demostrado un microorganismo común a los pacientes. Las endotoxinas, como LPS, también podrían activar el fenómeno inflamatorio si logran atravesar la pared intestinal.

Numerosos mediadores de inflamación han sido relacionados en modelos animales y en recién nacidos humanos, con la etiopatogenia de la enterocolitis necrotizante, entre ellos están el factor activador plaquetario (FAP), factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (FNT- $\alpha$ ), interleukina-1 (IL-1), interleukina-6 (IL-6) y endotelina-1 (ET-1) (figura). El FAP (1-0-*sn*-alquil-2-acetil-*sn*-glicerol-3-fosfolina) ha sido sugerido con mucha frecuencia. Es uno de los mediadores inflamatorios más potentes y actúa a concentraciones extremadamente bajas<sup>22</sup>. La hipoxia eleva las concentraciones de FAP en la circulación de ratas e induce daño de su mucosa intestinal, que es prevenido con antagonistas del mediador y menos acentuado que en otros modelos de necrosis intestinal, sugiriendo una etiología multifactorial<sup>23</sup>. La inyección de LPS, FAP y FNT- $\alpha$  a ratas adultas produce una necrosis intestinal similar a la encontrada en enterocolitis necrotizante<sup>24</sup>, sin embargo, la lesión secundaria a inyección de FNT- $\alpha$  sería mediada por FAP, ya que puede ser prevenida con los antagonistas de este mediador<sup>23</sup>. Probablemente el daño intestinal producido por FAP está relacionado con la activación de neutrófilos locales. Si se inyecta FAP y LPS en ratas con neutropenia, la necrosis intestinal no se produce, sugiriendo que la escasez de neutrófilos las protegería de su efecto<sup>25</sup>. Más aún, el ON protegería contra el daño en el intestino de rata producido por FAP probablemente mediante disminución en la infiltración de neutrófilos<sup>26</sup>.

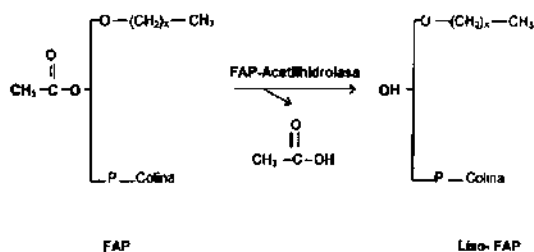


Figura: Inactivación del factor activador plaquetario (FAP). La remoción del grupo acetilo del  $C_2$  por la FAP-acetilhidrolasa hace que este compuesto se vuelva inactivo.

El FAP es rápidamente inactivado por remoción del grupo acetilo del carbono 2 que lo transforma en liso-FAP, por acción de la enzima FAP-acetilhidrolasa (FAP-AH)<sup>27</sup> regulada hormonalmente. En ratas adultas tratadas con medroxiprogesterona o dexametasona la actividad de FAP-AH plasmática se eleva, mientras que si se tratan con estrógenos, ésta disminuye<sup>28</sup>. En ratas adultas jóvenes, el aumento de la actividad de FAP-AH plasmática producido por dexametasona protege contra la necrosis intestinal inducida por la inyección de FAP en la aorta<sup>29</sup>. Durante el embarazo hay cambios sustanciales en la actividad de esta enzima, tanto en la madre como en el feto. En conejas preñadas durante la segunda mitad del embarazo hay una disminución progresiva de la actividad de FAP-AH plasmática, para aumentar rápida e inmediatamente antes del parto, y alcanzar, pocos días después, los niveles previos al embarazo<sup>30</sup>. En mujeres embarazadas la actividad de FAP-AH plasmática entre la 28 - 31 semanas de gestación es menor que a fines del tercer trimestre (37 - 40 semanas) y en no embarazadas<sup>31, 32</sup>. En fetos de conejos hacia el final del embarazo (día 21) estos niveles son menores que en las madres, pero se elevan antes del parto (día 30) al doble de los maternos, manteniéndose así por lo menos por un mes después del nacimiento<sup>30</sup>. La actividad de FAP-AH plasmática fetal humana en el tercer trimestre es menor que la materna y no varía al transcurrir el embarazo<sup>32</sup>. Al tratar ratas preñadas al final del embarazo con dexametasona (0,2 a 1 mg • kg • día im por 3 días) la actividad de FAP-AH plasmática fetal y neonatal no cambia, pero aumenta significativamente en ratas recién nacidas que reciben dexametasona directamente<sup>33</sup>. Por ahora no hay datos de la actividad de FAP-AH plasmática en fetos o recién nacidos humanos expuestos a corticoides antes de nacer.

La actividad de FAP-AH plasmática es menor en los recién nacidos de pretérmino que en los de término (< 30 sem:  $9,8 \pm 1,4$  nmol/ml/min ante término:  $19,7 \pm 2,9$  nmol/ml/min) y en adultos ( $53 \pm 6,1$  nmol/ml/min)<sup>34</sup>. Ella aumenta hasta las 6 semanas de vida, en que llega a ser similar que en adultos<sup>35</sup>. Puesto que en los nacidos pretérmino con enterocolitis necrotizante la concentración de FAP en la circulación es mayor y la actividad de FAP-AH es menor que en los sin enterocolitis necrotizante<sup>23</sup>, la menor ac-

tividad plasmática de esta última podría constituir un factor de riesgo para el desarrollo o severidad de la afección. Más aún, la concentración de FAP en la circulación de los recién nacidos de pretérmino aumenta discretamente después de alimentarles<sup>36</sup>, lo que apoyaría la hipótesis de la participación de la alimentación enteral en el desarrollo de la enterocolitis necrotizante aumentando los niveles de FAP, entre otras cosas.

### Áreas potenciales de prevención

Se han hecho variados intentos para prevenir esta enfermedad. Fundamentalmente éstos han estado orientados a mejorar las defensas intestinales, disminuir o prevenir la colonización anormal del tubo digestivo e interrumpir la acción de mediadores de la inflamación. Sin duda la mejor forma de prevenirla es disminuyendo los partos antes del término de la gestación.

Se han realizado intervenciones en la alimentación. El uso del tracto intestinal en RN de pretérmino ha sido motivo de larga discusión. El aumento de la incidencia de enterocolitis necrotizante en los años de la década de 1960, el desarrollo de métodos de alimentación parenteral y la asociación hecha en esa época entre la afección y la alimentación enteral hicieron que la vía enteral prácticamente fuera abandonada. Sin embargo, la presencia de nutrientes en el lumen intestinal promueve la maduración de la actividad motora del intestino de los RN de pretérmino cuando se compara con la de aquellos que sólo han recibido volúmenes similares de agua<sup>37</sup>. Más aún, estudios aleatorios controlados en RN < 1 500 g han demostrado que si ellos reciben una alimentación enteral temprana, la toleran mejor y su aumento de peso es mayor<sup>38</sup>, incluso en los que están en situación crítica y requieren ventilación mecánica<sup>39</sup>. A pesar que con la alimentación precoz no ha aumentado la incidencia de enterocolitis necrotizante, tampoco se ha demostrado, desafortunadamente, que esta intervención la prevenga.

El efecto protector de la leche materna contra esta forma de enterocolitis se ha demostrado, tanto en animales como en humanos. En un estudio multicéntrico y prospectivo en RN de pretérmino alimentados con leche materna, la incidencia del trastorno fue seis a diez veces menor que en los niños alimentados sólo con

fórmula y tres veces menor que en los alimentados con fórmula más leche materna como suplemento, demostrándose que tiene efecto protector aun en esta última circunstancia<sup>40</sup>. Numerosos factores contribuirían en la protección<sup>41</sup>, como las inmunoglobulinas, especialmente las IgA. Se ha descrito un estudio en que disminuyó la incidencia de enterocolitis necrotizante en RN de pretérmino alimentados con fórmula enteral a los cuales se les administró por vía oral IgA e IgG 600 mg • día durante 28 días<sup>42</sup>. Sin embargo, estos resultados no han sido reproducidos.

También se ha demostrado la presencia de FAP-AH tanto en la leche humana como en la de otras especies, lo que podría tener algún efecto en la prevención de la enfermedad<sup>43</sup>; sin embargo, esto no ha sido comprobado. La mayor actividad de FAP-AH se encuentra en la leche de madres con parto de pretérmino (33 - 36 semanas). A medida que avanza la lactancia, la actividad de FAP-AH en la leche de término disminuye, mientras que la de pretérmino se mantiene alta, llegando a ser 5 veces más alta que la de término, 2 semanas después del parto<sup>44</sup>. También se ha recurrido a acidificación de la alimentación enteral, porque se ha sugerido una relación entre la hipoclorhidria gástrica del RN de pretérmino y la colonización del intestino con flora anormal. En un estudio aleatorio doble ciego en 34 RN de pretérmino, cuya alimentación fue acidificada (0,01 - 0,02 ml de HCl 1 N/ml de leche materna o fórmula), la incidencia de colonización gástrica y enterocolitis necrotizante fue menor que el grupo control. No obstante, fue necesario disminuir la dosis de HCl en 24% de los RN que recibieron alimentación acidificada, por presentar acidosis metabólica, aun cuando ésta también se registró en 11% de los controles<sup>45</sup>. Se requieren todavía más estudios para cerciorarse de la efectividad y seguridad de este tratamiento en la prevención del trastorno.

Numerosos indicios sugieren que los corticosteroides pudiesen servir en la prevención de esta enfermedad. El uso, antes del parto, de cortisona en ratas preñadas disminuye la probabilidad de la afección en las crías sometidas a estímulos hipóxicos repetidos y alimentadas artificialmente<sup>46</sup>. En ratas recién nacidas, pretratadas con hidrocortisona intraperitoneal (2 veces • día por 4 días), que además reciben FAP

por la misma vía, aumenta la actividad de enzimas digestivas (lactasa y maltasa), mientras las de XO y mieloperoxidasa disminuyen y, además, ellas quedan protegidas contra el daño intestinal producido por el FAP. Los corticoides actuarían, en este modelo, en dos niveles: madurando el intestino, como está demostrado por la elevación de enzimas digestivas, y, además, disminuyendo la capacidad de producir radicales libres de oxígeno al reducir las acciones de la XO y de los neutrófilos<sup>47</sup>. Probablemente los corticoides también actúen a otros niveles en la prevención de enterocolitis necrotizante, como disminuyendo la permeabilidad de la barrera intestinal a las macromoléculas<sup>46</sup> y regulando los mediadores de la inflamación. En ratas adultas jóvenes, al tratarlas previamente con corticoides, con el fin de elevar la actividad de FAP-AH plasmática, se previene la lesión intestinal producida por inyección intraaórtica de FAP<sup>29</sup>. Lo mismo ocurre en ratas recién nacidas que reciben dexametasona inmediatamente después de nacer<sup>33</sup>. La elevación en la actividad de la FAP-AH plasmática podría explicar, en parte, su efecto protector.

La experiencia en humanos con el uso de corticoides para prevenir la enterocolitis necrotizante es limitada. En un estudio colaborativo, aleatorio de doble ciego, en los RN de madres que recibieron dexametasona 5 mg cada 12 horas por 4 dosis antes del parto para acelerar la maduración pulmonar fetal, la incidencia de la enfermedad disminuyó significativamente en comparación con los controles<sup>48</sup>. En un meta-análisis de las experiencias controladas de uso prenatal de corticoesteroides, sólo en el estudio recién aludido se registró disminución de la incidencia de la afección. Sin embargo, en los otros el número de casos con enterocolitis necrotizante no era suficiente para obtener conclusiones válidas<sup>49</sup>. La incidencia de la enfermedad también fue significativamente menor en RN de pretérmino no expuestos a corticoides antes de nacer y considerados de alto riesgo para desarrollar el trastorno (asfisia severa y resucitación), tratados con altas dosis de dexametasona (2 mg • kg • dosis cada 12 horas durante 7 días) durante la primera semana de vida, que en los controles no tratados, aunque en ambos grupos tuvieron mayor incidencia que la de los RN cuyas madres recibieron corticoides antenatales para obtener maduración pulmonar

fetal<sup>50</sup>. Esta experiencia no ha sido repetida. Los ensayos con corticoides postnatales, administrados durante las primeras semanas después del parto para prevenir problemas pulmonares crónicos, no tienen suficientes casos de enterocolitis necrotizante como para sacar conclusiones claras y el uso de corticoides en RN con displasia pulmonar establecida tampoco ha causado disminución en la incidencia de aquélla.

Puesto que varios mediadores de inflamación podrían participar en los distintos mecanismos que producirían enterocolitis necrotizante, se ha tratado de identificar compuestos que pudieran disminuir sus efectos. El FAP actúa a través de receptores celulares específicos y se han descrito varios antagonistas en ese nivel<sup>51</sup>, que pueden prevenir la lesión intestinal que este factor induce en ratas<sup>23</sup>. En Europa los antagonistas de FAP han sido probados en voluntarios adultos con asma<sup>52</sup>, pero no para prevenir la enterocolitis necrotizante en niños recién nacidos.

Los antioxidantes como la SOD bovina, se han investigado en la prevención de displasia broncopulmonar en RN de pretérmino<sup>53</sup>. A pesar que la SOD humana, por vía enteral o parenteral, previene en conejos la lesión intestinal producida por el ciclo de isquemia y reperfusión<sup>20</sup>, aún no se han publicado evaluaciones en RN humanos relativos a su efecto sobre la enterocolitis necrotizante.

## Resumen

La etiopatogenia de la enterocolitis necrotizante parece ser multifactorial. Es probable que existan dos formas distintas de ella: la de recién nacidos de pretérmino y la de los de término, en las cuales estos factores tendrían distinta preponderancia. En el primer caso, la prematuridad con inmadurez del intestino y de la respuesta inmune jugaría un rol fundamental, mientras en el segundo tendrían mayor relevancia los fenómenos hipóxicos. A pesar que los mediadores de la inflamación, especialmente el factor activador plaquetario, parecen participar en la etiopatogenia de la afección, la información disponible en humanos es insuficiente para determinar si ellos son causa o efecto del trastorno. Se requiere aún más investigación para entender mejor la etiología y la patogenia de la enterocolitis necrotizante, a partir de la cual desarrollar

métodos de prevención o nuevas opciones para mejorar los resultados del tratamiento de los recién nacidos afectados.

(Palabras clave: enterocolitis necrotizante, recién nacido, prematuro.)

## Referencias

1. Leong G, Drew J: Necrotizing enterocolitis. A 15-year experience. Aust NZ J Obstet Gynaecol 1987; 27: 40-44.
2. Polin R, Pollack P, Barlow B, et al: Necrotizing enterocolitis in term infants. J Pediatr 1976; 89: 460-462.
3. Stoll B: Epidemiology of necrotizing enterocolitis. Clin Perineonol 1994; 21: 205-218.
4. Bell M, Temberg J, Feigin R, et al: Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. Ann Surg 1978; 187: 1-7.
5. Uauy R, Fanaroff A, Korones Sh, Philips J, Wright L: Necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants: Biodemographic and clinical correlates. J Pediatr 1991; 119: 630-638.
6. Correia G, Gugliano C, Difeo A, Aldunate G: Enterocolitis necrotizante del recién nacido. Pediatría 1989; 32: 135-138.
7. Caro M, Ide A, Chiang M, et al: Enterocolitis necrotizante neonatal NEC; tratamiento quirúrgico. Rev Chil Pediatr 1989; 60: 79-84.
8. Torres P, Lucero X, Ezzantier F, Caballero M: Enterocolitis necrotizante neonatal: características clínicas y factores de riesgo. Pediatría 1992; 35: 81-84.
9. Israel E: Neonatal necrotizing enterocolitis, a disease of the immature intestinal mucosal barrier. Acta Paediatr Sc 1994; 396 (Suppl): 27-32.
10. Ballance W, Dahms B, Shenker N, Kliegman R: Pathology of neonatal necrotizing enterocolitis: a ten year experience. J Pediatr 1990; 117 (Suppl): S6-13.
11. Barlow B, Santulli T, Heird W, Pitt J, Blanc W, Schullinger J: An experimental study of acute neonatal enterocolitis: the importance of breast milk. J Pediatr Surg 1974; 9: 587-595.
12. Edelstone D, Holzman F: Gastrointestinal tract O<sub>2</sub> uptake and regional blood flows during digestion in conscious newborn lambs. Am J Physiol 1981; 241: G289.
13. Moncada S, Palmer R, Higgs E: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. Pharmacol Rev 1991; 43: 109-142.
14. MacKendrick W, Hedlund E, Song L, Caplan M: Inhibition of inducible nitric oxide synthetase (iNOS) prevents endotoxin and hypoxia-induced intestinal injury in rats. Pediatr Res 1995; 37: 127A.
15. Nowiki P, Reber K: Flow is a stimulus for nitric oxide (NO) release in newborn mesenteric artery. Pediatr Res 1995; 37: 130A.
16. Nowiki P: Ischemia-reperfusion affects mesenteric artery nitric oxide production in an age dependent fashion. Pediatr Res 1995; 37: 227A.
17. Abraham C, Balogh N, Tarrade T, et al: Platelet activating factor, cytokines and nitric oxide in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis in asphyxiated newborn pigs. Pediatr Res 1995; 37: 191A.

18. Granger D: Role of xantineoxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988; 255: H1269-1275.
19. Crissinger K, Grisham J, Granger D: Developmental biology of oxidant-producing enzymes and antioxidant in the piglet intestine. *Pediatr Res* 1989; 25: 612.
20. Vohra K, Rosenfeld W, Singh I, Anderson V: Ischemic injury to newborn rabbit ileum: protective role of human superoxide dismutase. *J Pediatr Surg* 1989; 24: 893-897.
21. Crissinger K, Tsao P: The role of lipids in ischemia-reperfusion induced changes in mucosal permeability in developing piglets. *Gastroenterology* 1992; 102: 1693-1699.
22. Prescott S, Zimmerman G, McIntyre T: Platelet activating factor. *J Biol Chem* 1990; 265: 17381-17384.
23. Caplan M, Sun X, Hsueh W: Hypoxia, PAF and necrotizing enterocolitis. *Lipids* 1991; 26: 1340-1343.
24. Gonzalez-Crussi F, Hsueh W: Experimental model of ischemic bowel necrosis. The role of platelet activating factor and endotoxin. *Am J Pathol* 1983; 112: 127-135.
25. Musemeche C, Caplan M, Hsueh W, Sun X, Kelly A: Experimental necrotizing enterocolitis: the role of polymorphonuclear neutrophils. *J Pediatr Surg* 1991; 1047-1050.
26. MacKendric W, Caplan M, Hsueh W: Endogenous nitric oxide protects against platelet activating factor induced bowel injury in the rat. *Pediatr Res* 1993; 34: 222-228.
27. Stafforini D, Prescott S, McIntyre T: Human plasma platelet activating factor acetylhydrolase. *J Biol Chem* 1987; 262: 4215-4222.
28. Yasuda K, Johnston J: The hormonal regulation of platelet activating factor acetylhydrolase in the rat. *Endocrinology* 1992; 130: 708-716.
29. Furukawa M, Lee E, Johnston J: Platelet activating factor induced bowel necrosis: the effect of platelet activating factor acetylhydrolase. *Pediatr Res* 1993; 34: 237-241.
30. Maki N, Hoffman D, Johnston J: Platelet activating factor acetylhydrolase in maternal, fetal and newborn rabbit plasma during pregnancy and lactation. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85: 728-732.
31. Maki N, Magness R, Miyaura Sh, Gant N, Johnston J: Platelet activating factor acetylhydrolase activity in normotensive and hypertensive pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 50-54.
32. Kobayashi F, Sagawa N, Ihara Y, Kitawa K, Yano J, Mori T: Platelet activating factor acetylhydrolase activity in maternal and umbilical venous plasma obtained from normotensive and hypertensive pregnancies. *Obstet Gynecol* 1994; 84: 360-364.
33. Contador M, Moya F, Zhao B, et al: Perinatal effect of dexamethasone (DEX) on rat plasma platelet activating factor acetylhydrolase (PAF-AH). *Pediatr Res* 1994; 95: 219A.
34. Moya F, Eguchi H, Rosenfeld C, Johnston J: Plasma-activating factor acetylhydrolase activity (PAF-AH) in preterm (PT) and term (T) neonates. *Pediatr Res* 1992; 31: 213A.
35. Caplan M, Hsueh W, Kelly A, Donovan M: Serum PAF acetylhydrolase increase during neonatal maturation. *Prostaglandina* 1990; 39: 705-714.
36. MacKendrick W, Hill N, Hsueh W, Caplan M: Increase in plasma platelet-activating factor levels in enterally fed preterm infants. *Biol Neonate* 1993; 64: 89-95.
37. Berseth C, Nordyke C: Enteral nutrients promote postnatal maturation of intestinal motor activity in preterm infants. *Am J Physiol* 1993; 264: G1046-G1051.
38. Berseth C: Effect of early feeding on maturation of the preterm infant's small intestine. *J Pediatr* 1992; 120: 947-953.
39. Troche B, Harvey-Wikes K, Engle W, et al: Early minimal feeding promote growth in critically ill premature infants. *Biol Neonate* 1995; 67: 172-181.
40. Lucas A, Cole T: Breast milk and necrotizing enterocolitis. *Lancet* 1990; 336: 1519-1523.
41. Buesher E: Host defense mechanisms of human milk and their relation to enteric infections and necrotizing enterocolitis. *Clin Perineonol* 1994; 21: 247-262.
42. Eibl M, Wolf H, Fümkrantz H: Prophylaxis of necrotizing enterocolitis by oral IgA-IgG: review of a clinical study in low birth weight infants and discussion of the pathogenic role of onfection. *J Clin Immunol* 1990; 10: 72S-79S.
43. Furukawa M, Narahara H, Yasuda K, Johnston J: Presence of platelet-activating factor-acetylhydrolase in milk. *J Lipid Res* 1993; 34: 1603-1609.
44. Moya F, Eguchi H, Zhao B, et al: Platelet-activating factor acetylhydrolase in term and preterm human milk: A preliminary report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; 19: 236-238.
45. Carrion V, Egan E: Prevention of neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990; 11: 317-323.
46. Israel E, Schiffrin E, Carter E, Freiberg E, Walker W: Prevention of necrotizing enterocolitis in the rat with prenatal cortisone. *Gastroenterol* 1990; 99: 1333-1338.
47. Musemeche C, Pizzini R, Andrassy R: Intestinal ischemia in the newborn: the role of intestinal maturation. *J Surg Res* 1993; 55: 595-598.
48. Bauer C, Morrison J, Poole W, et al: A decreased incidence of necrotizing enterocolitis after prenatal glucocorticoid therapy. *Pediatrics* 1984; 73: 682-688.
49. Crowley P, Chalmers I, Kierse M: The effect of corticosteroid administration before preterm delivery: an overview of the evidence of controlled trials. *Br J Obstet Gynaecol* 1990; 97: 11-25.
50. Halac E, Halac J, Bégú E, et al: Prenatal and postnatal corticosteroid therapy to prevent neonatal necrotizing enterocolitis. A controlled trial. *J Pediatr* 1990; 117: 132-138.
51. Chao W, Olson M: Platelet-activating factor: receptors and signal transduction. *Biochem J* 1992; 292: 617-629.
52. Roberts NM, McCusker M, Chung KF, et al: Effect of a PAF antagonist, BN 52063, on PAF - induced bronchoconstriction in normal subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1988; 26: 65-72.
53. Rosenfeld W, Evans H, Concepción L, et al: Prevention of bronchopulmonary displasia by administration of bovine superoxide dismutase in preterm infants with respiratory distress syndrome. *J Pediatr* 1984; 105: 781-785.