

Valoración de riesgo de los hallazgos clínico-quirúrgicos y de anatomía patológica en neonatos con enterocolitis necrotizante que han recibido tratamiento quirúrgico

F. Cáceres^{1,6}, D. Franco², J. Arboleda^{1,5}, P. Cuesta³, E. Hidalgo⁴, P. Astudillo^{1,5}

¹Servicio de Cirugía Pediátrica. ²Servicio de Anatomía Patológica. ³Pediatría. ⁴Servicio de Neonatología. Hospital Pediátrico Baca Ortiz. ⁵Universidad Internacional del Ecuador. ⁶SENESCYT. DM Quito. Ecuador.

RESUMEN

Introducción. A pesar de los avances en cuidados neonatales entre el 20 y 63% de los niños con enterocolitis necrotizante (ECN) necesitan cirugía. El objeto fue buscar una correlación y factores de riesgo de los neonatos con ECN "IIB/IIIA/IIIB" de Bell y los hallazgos clínicos, quirúrgicos y de anatomía patológica.

Material y métodos. Se analizaron neonatos con diagnóstico de ECN que recibieron cirugía y se analizó las variables: clínico-quirúrgicas y de anatomía patológica. Estudiamos dos grupos: control (n= 5) y grupo ECN (n= 12). Se realizaron comparaciones entre los grupos mediante la U-Mann-Whitney y el coeficiente de Spearman (r). Para valorar el riesgo de morbilidad/mortalidad asociada a la extensión de resección intestinal aplicamos la regresión de Cox.

Resultados. Hay diferencias (p<0,05) entre el grupo control y el grupo ECN respecto a Bell, la altura media de vellosidades, Chiu y el número de células caliciformes. En el grupo ECN hubo correlaciones (p<0,05) de Bell respecto a Chiu y resección del colon (r= 0,761; r= 0,687), neumatosis/perforación (r= 1) y altura media de vellosidades (r= -0,878). La resección intestinal fue de 26 cm (3-107). Se observó un riesgo de 1,04 en periodo neonatal (p> 0,05) de fallecer o presentar secuelas post-enterocolitis asociados a la extensión de resección intestinal.

Conclusiones. La disminución de la altura media de vellosidades, el mayor grado de lesión intestinal microscópica y la disminución de la población de células caliciformes contribuyen a conseguir una mayor extensión de resección intestinal y favorece el riesgo de fallecer o desarrollar secuelas post-enterocolitis.

PALABRAS CLAVE: Enterocolitis necrotizante; Cirugía; Pronóstico.

EVALUATION OF THE RISK OF THE CLINICAL-SURGICAL AND PATHOLOGY STUDY FINDINGS IN NEWBORNS WITH NECROTIZING ENTEROCOLITIS WHO HAVE RECEIVED SURGICAL TREATMENT

ABSTRACT

Introduction. Despite advances in neonatal care between 20% and 63% of children with necrotizing enterocolitis (NEC) require surgery. The aim was correlation the risk factors of infants with NEC "IIB / IIIA / IIIB" Bell and the clinical, surgical and pathological findings.

Method. In the children with diagnosis of NEC surgically treated, were analyzed of variables: clinical, surgical and pathological findings. We studied two groups: control (n= 5) and NEC group (n= 12). Comparisons were made between groups using the Mann-Whitney U- and the Spearman coefficient (r). To assess the risk of morbidity / mortality associated with the extent of intestinal resection we applied the Cox regression.

Result. We found differences (p<0.05) between control group and the NEC group regarding Bell, the mean height of villi, Chiu and the number of goblet cells. In the NEC group we find correlations (p<0.05) from Bell, regarding Chiu (r= 0.761), resection of the colon (r= 0.687), pneumatosis / perforation (r= 1) and the mean height of villi (r = -0.878). The gut resection was at 26 cm (3-107). We observed a risk of 1.04 in the neonatal period (p> 0.05) of mortality or consequence post-enterocolitis associated with the extent of bowel resection.

Conclusion. The decrease in the average height of villi, the highest level of microscopic intestinal injury and reduced goblet cell population contributes to a greater extent of intestinal resection, which favors the risk of death or developing consequence post-enterocolitis.

KEY WORDS: Necrotizing enterocolitis; Surgery; Prognosis.

Correspondencia: Dr. Freud Cáceres Aucatoma. Hospital Pediátrico Baca Ortiz. Av. 6 de Diciembre y Av. Colón. Tercer piso (Edf. Administrativo). Quito. Ecuador
E-mail: fcaceres@hsjdbcn.org

Recibido: Julio 2011

Aceptado: Septiembre 2011

INTRODUCCIÓN

La enterocolitis necrotizante (ECN) es una de las más enigmáticas enfermedades intestinales en periodo neonatal⁽¹⁾. Desde su primera descripción en 1888 hasta la actualidad, la ECN sigue siendo una enfermedad devastadora, sobre todo en neonatos de muy bajo peso al nacer^(2,3). En el siglo pasado

la mortalidad se encontraba por el 70% y, en la actualidad, oscila entre el 10 a 50%⁽²⁾. A pesar de los avances médicos en cuidados neonatales entre el 20 y 63% de los niños con ECN necesitan una intervención quirúrgica justificada por una progresión de la enfermedad⁽⁴⁻⁶⁾ y por trabajos experimentales acerca de la lesión intestinal debida a la isquemia - reperfusion⁽⁷⁻⁹⁾. Por tales razones, de un 20 a un 60% de los neonatos con ECN requieren algún tipo de intervención quirúrgica⁽¹⁰⁾. Bell concluye que la cirugía se reserva a estadios avanzados y en pacientes que no responden al tratamiento médico. Por lo tanto, este grupo tiene una menor posibilidad de supervivencia⁽¹¹⁾. Nuestro estudio pretende buscar una correlación y factores de riesgo de los neonatos con ECN estadio - IIB/IIIA/IIIB - de Bell modificado y los hallazgos clínicos, quirúrgicos y de anatomía patológica.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron en los últimos 6 años neonatos con diagnóstico histopatológico de ECN que recibieron tratamiento quirúrgico en periodo neonatal. El estudio comprendió el análisis de variables clínicas, quirúrgicas y de anatomía patológica.

Diseño de la investigación

Estudiamos dos grupos. Grupo control (n= 5) que corresponde a muestras histológicas de los bordes libres de resección en pacientes con atresia intestinal en periodo neonatal. En este grupo se estudió solamente las variables histológicas con el fin de establecer un patrón de base.

Grupo ENC (n= 12) que corresponde a muestras histológicas de pacientes sometidos a tratamiento quirúrgico en periodo neonatal afectados de ECN.

Estudio clínico y quirúrgico

Las variables clínicas fueron: lugar de procedencia, edad gestacional, sexo, raza, estadio de Bell modificado por Walsh y Kliegman⁽¹²⁾ (IA: sospecha leve; IB: sospecha moderada; IIA: confirmado leve; IIB: confirmado moderado; IIIA: progresión de la enfermedad con intestino intacto y IIIB: progresión de la enfermedad con perforación intestinal), patologías gastrointestinales asociadas y sobrevida neonatal (vivo/fallece).

Las variables quirúrgicas fueron: edad de primera cirugía, número de intervenciones, centímetros de resección intestinal y secuelas post-enterocolitis (síndrome de intestino corto, estenosis intestinal, colestasis o déficit neurológico).

Estudio de anatomía patológica

Las mediciones detalladas a continuación fueron realizadas con una magnificación de 10x/0,20. La conversión de milímetros (mm) a micras (μm) para una magnificación de 10x corresponde a 1 mm = 10 μm ⁽⁷⁾. En cada corte se estudiaron cinco vellosidades intestinales determinando: la altura media de vellosidades (AMV), espesor medio de

vellosidades (EMV), la escala de Chiu⁽¹³⁾ (vellosidades normales = 0; espacio subepitelial de Grünhagen, congestión capilar = 1; separación moderada entre el epitelio y la lámina propia = 2; separación masiva del epitelio con denudación de vellosidades = 3; denudación múltiple de vellosidades con explosión de lámina propia = 4; y digestión, desintegración de lámina propia, hemorragia y ulceración = 5) y el número de células calciformes. Además, se estudiaron otros hallazgos histopatológicos como perforación y neumatosis.

Análisis estadístico

Para la comparación entre los grupos se usó U-Mann-Whitney. Para cuantificar la correlación entre las variables clínicas, quirúrgicas y de anatomía patológica en el grupo ECN, se utilizó el coeficiente de correlación de rangos de Spearman (r). Por otro lado, para valorar el riesgo de morbilidad/mortalidad asociada a la extensión de resección intestinal aplicamos un estudio de regresión de Cox. Consideraremos como resultado significativo un $p < 0,05$.

RESULTADOS

En el estudio descriptivo (Tabla I) del grupo ECN (n= 12) encontramos que el 66,7% de los pacientes provienen de la Provincia de Pichincha. El 83,3% fueron pre-término. El 66,7% fueron de sexo femenino. El 83,4% fueron mestizos. Respecto al estadio de Bell modificado el 41,7% fue IIB y el 58,3% fue III. Las patologías gastrointestinales asociadas se presentaron en el 33,3% y fueron: atresia tipo IV, membrana duodenal y enfermedad de Hirschsprung. Durante el periodo neonatal un paciente falleció (8,3%). Continuado con el grupo ECN respecto a las variables quirúrgicas la edad de primera cirugía fue a los 11 días (2-29), el número de intervenciones fue de 2 (1-4), los cm de resección del intestino delgado fueron 12 (0-70), los cm de resección del colon fueron de 13 (0-90), los cm totales de resección fueron 26 (3-107) y el 16,7% presentó secuelas post-enterocolitis, como: intestino corto (1), colestasis (1) y fístula entero-cutánea (1). No existieron pacientes con déficit neurológico.

Respecto al estudio de anatomía patológica (Tabla II) en el grupo ECN, la AMV fue de 171 μm (0-306), el EMV fue 54 μm (0-88), el grado de lesión para el intestino delgado según Chiu fue de 5 (0-5), el grado de lesión intestinal para el colon según Chiu fue de 2,5 (0-5) y el número de células calciformes fue de 2,7 (0-11). Por otro lado, en el 33,3% se encontró neumatosis, en el 16,7% perforación, en el 8,3% neumatosis más perforación y el 41,7% no desarrolló tales hallazgos (Fig. 1).

Comparación entre grupo control y grupo ECN

Encontramos diferencias significativas ($p < 0,05$) para Bell modificado, la AMV (Fig. 2), el EMV, Chiu del intestino del-

Tabla I Características clínicas y quirúrgicas del grupo ECN

Grupo ECN	n= 12	Porcentaje (%)
Lugar de procedencia. Provincia		
Pichincha	8	66,7
Santo Domingo	1	8,3
Tungurahua	1	8,3
Bolívar*	1	8,3
Pastaza*†	1	8,3
Edad gestacional (EG)		
Pre-término	10	83,3
A término	2	16,7
Sexo		
Femenino	8	66,7
Masculino	4	33,3
Raza		
Mestizo	10	83,4
Nativo/indígena*†	2	16,6
Estadio de Bell modificado		
IIB	5	41,7
IIIA	4	33,3
IIIB	3	25
Patología gastrointestinal asociada		
Sí	4	33,3
No	8	66,7
Sobrevida neonatal		
Vivo	11	91,7
Fallece	1	8,3
Secuelas post-enterocolitis		
Sí	2	16,7
No	2	16,7
NC	8	66,7
<i>Grupo ECN (n= 12)</i>		<i>Mediana (rango)</i>
Resección intestinal total (cm)		26 (3-107)
Intestino delgado (cm)		12 (0-70)
Colon (cm)		13 (0-90)

NC: no se conoce. *Shuar y Kichwa. †Fallece.

gado/grueso y el número de células caliciformes, al comparar datos del grupo control respecto al grupo ECN (Tabla II).

Correlación entre el estudio clínico, quirúrgico y de anatomía patológica del grupo ECN

El estadio de Bell modificado tuvo una correlación positiva estadísticamente significativa con el grado de lesión del colon valorado por Chiu ($r= 0,761$ $p< 0,05$), los centímetros de resección del colon ($r= 0,687$ $p< 0,05$) y neumatosis/perforación ($r= 1$ $p< 0,01$). La AMV presentó una correlación negativa estadísticamente significativa con los centímetros de resección del intestino delgado ($r= -0,878$ $p< 0,01$) (Fig. 3). Los centímetros de resección del colon demostraron una correlación significativamente positiva con el grado de lesión del colon valorado por Chiu ($r= 0,961$ $p< 0,01$) y neumatosis/perforación ($r= 0,687$ $p< 0,05$).

Tabla II Comparación clínica, quirúrgica y morfométrica entre el grupo control y grupo ECN

	Grupo control	Grupo ECN
Edad (días)	6 (3-7)	11 (2-29)
Estadio de Bell modificado	0 (0-0)	IIB (IIB-IIIIB)**
AMV μ m	320 (210-340)	171 (0-306)**
EMV μ m	84 (64-92)	54 (0-88)*
Chiu delgado	0 (0-0)	5 (0-5)**
Chiu colon	0 (0-0)	2,5 (0-5)*
Células caliciformes (n°)	15,8 (8,6-24)	2,75 (0-11)**

*Los datos son expresados como mediana (rango). **Representa $p< 0,01$. *Representa $p< 0,05$ comparado con el grupo control. AMV: altura media de vellosidades; EMV: espesor medio de vellosidades.*

Riesgo de mortalidad y morbilidad asociadas a la resección intestinal

Se observó un riesgo relativo (RR) de 1,04 en periodo neonatal, no significativo ($p> 0,05$) de presentar eventos de morbilidad o mortalidad asociados a la extensión (cm) de resección intestinal. Los tres eventos posteriores al tratamiento quirúrgico de la serie fueron (Fig. 5): fallecimiento a las 24 horas (48 cm), intestino corto más fístula entero-cutánea a los 21 días (107 cm) y colestasis sin asociación a sepsis a los 27 días (26 cm).

DISCUSIÓN

Se conoce que la ECN genera morbilidad en recién nacidos prematuros⁽¹⁴⁾ y mortalidad, situándose alrededor del 66%⁽¹⁵⁾. Por lo tanto, nuestro interés fue investigar factores que contribuyan a comprender su rápida y variada evolución.

Clark y cols.⁽¹⁵⁾ identificaron en neonatos con ECN algunas características como: la prematuridad, contar con menos 7 días de vida o ser de raza negra, que predisponían a un riesgo más elevado de fallecer. Relacionando con nuestra serie el único paciente que falleció fue prematuro, de 17 días de vida, y etnia shuar (nativo sudamericano). Su fallecimiento se produjo a las 24 horas tras recibir tratamiento quirúrgico. Su lugar de residencia se encontraba aproximadamente a 213 km del único centro especializado (Fig. 4).

Al estudiar modelos experimentales⁽⁷⁻⁹⁾ de rata neonata a nivel histológico (morfometría microscopía) observamos: disminución, atrofia y daño de las vellosidades intestinales como producto de la isquemia y reperfusión. Carrasco⁽⁷⁾, Cáceres⁽⁸⁾ y Puglisi⁽¹⁶⁾ en sus estudios microscópicos en grupos experimentales con ECN encontraron que la altura media de vellosidades decreció casi a la mitad y que el grado de lesión intestinal valorado por la escala de Chiu se incrementó. En nuestro estudio en neonatos humanos con ECN (\geq IIB de Bell modificado), encontramos similares resultados que los demostrados por los estudios experimentales. Es así que, al comparar con secciones histológicas de intestino normal

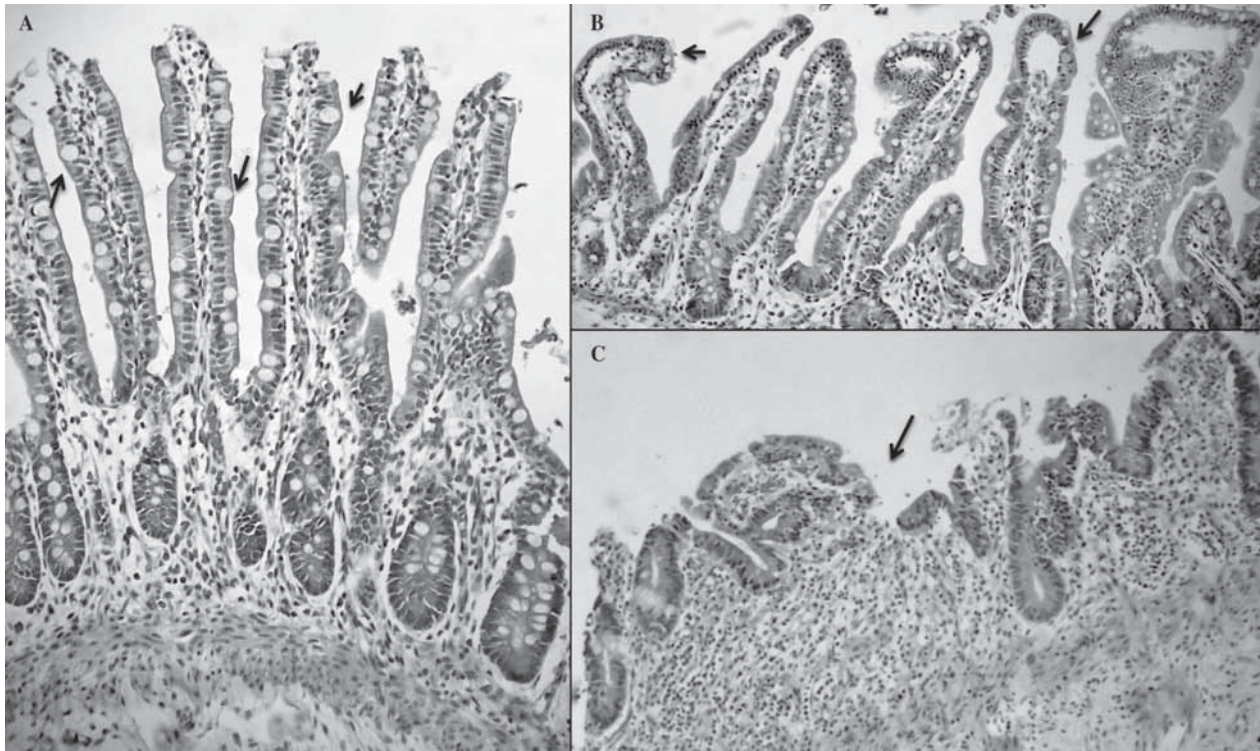


Figura 1. A) Vellosidades normales del grupo control con presencia de células caliciformes (flecha); B) Vellosidades del grupo ECN con presencia de células caliciformes (flecha), espacio subepitelial de Grüenhagen (flecha) y congestión capilar; C) Vellosidades del grupo ECN con denudación múltiple, explosión, digestión y desintegración de lámina propia (flecha) además de un acortamiento importante de la altura media de vellosidades y células caliciformes.

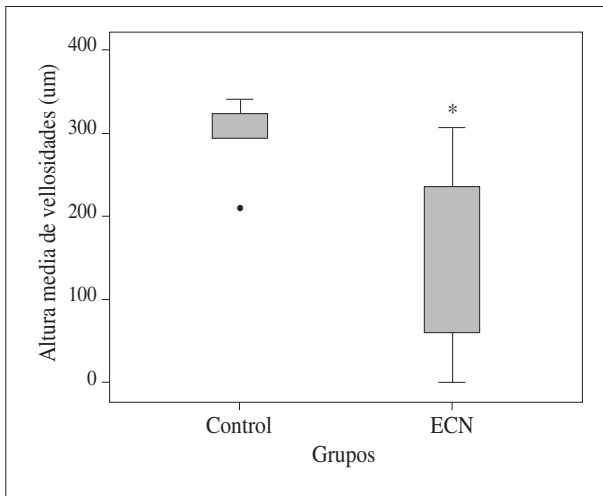


Figura 2. Comparación morfométrica de la altura media de vellosidades (AMV) entre el grupo control y grupo ECN. •Dato extremo del grupo control. *Representa $p < 0,05$ comparado con el grupo control.

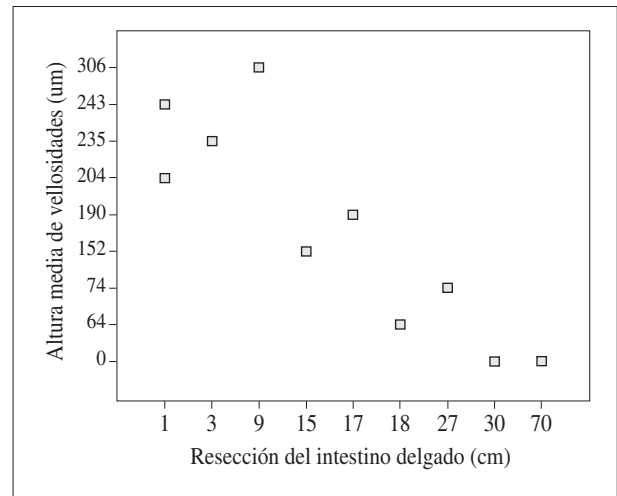


Figura 3. Diagrama de dispersión que muestra la correlación negativa entre la altura media de vellosidad (AMV) y los centímetros de resección del intestino delgado ($r = -0,878$; $p < 0,01$).

se pudo comprobar reales diferencias significativas en daño de las vellosidades intestinales. Por lo tanto, estos hallazgos microscópicos apoyan uno de los mecanismos multifactoriales de la patogénesis de la ECN demostrados experimentalmente⁽⁷⁻⁹⁾. Nos referimos a la lesión hipóxico isquémica y de reperusión^(1,17,18). A nivel celular la isquemia - reperusión

produce hipoxia celular debido a una respuesta exagerada, alterando la regulación de óxido nítrico, isoformas de óxido nítrico sintetasa, endotelina-1, guanósil monofosfato cíclico y sustancia P⁽¹⁹⁾.

Respecto a las células caliciformes Cáceres⁽⁸⁾ y Schaart⁽²⁰⁾ en sus estudios sobre ratas con ECN observaron una reducción



Figura 4. Lugar de residencia de los pacientes con ECN que recibieron tratamiento quirúrgico. Pichincha (8), Santo Domingo (1), Tungurahua (1), Bolívar (1) y Pastaza (1). •Fallece. El Hospital Pediátrico Baca Ortiz se localiza en Pichincha.

en número. Se conoce que la conservación de estas células constituye un factor protector en un modelo experimental de colitis ulcerosa en rata adulta⁽²¹⁾. Es así, que nuestra investigación coincidió con los modelos experimentales^(8,20,21) al observar una disminución importante en el grupo ECN. Por lo tanto, la población de células caliciformes disminuidas acelera el proceso de daño intestinal en favor de estadios de Bell avanzados. Esto se explica por la pérdida del moco intestinal como uno de los mecanismos de revestimiento de la barrera epitelial⁽²²⁻²⁴⁾.

Los criterios de Bell⁽¹¹⁾ modificados por Walsh y Kliegman⁽¹²⁾ en 1986 aún continúan en vigencia para valorar la severidad de la enfermedad. Sin embargo, autores como Gordon y cols. plantean una revisión de los mismos⁽²⁵⁾. Respecto a los 5 pacientes con ECN IIB la decisión quirúrgica se fundamentó en la persistencia del deterioro clínico y radiológico (edema, eritema, masa abdominal, trombopenia, acidosis y gas portal) que no se logró corregir a pesar del tratamiento médico instaurado⁽²⁶⁻²⁹⁾. Nuestro estudio observó una correlación directa de estadios avanzados de Bell (III) con el daño microscópico del colon: Chiu de 2,5 (0-5), presencia de neumosis/perforación y extensión de resección intestinal entre 13 a 90 cm. En cuanto a los hallazgos del intestino delgado, se observó una fuerte correlación entre la altura media de vellosidades y la extensión de resección intestinal, lo cual corroboró la enorme agresividad de la enfermedad, producto de lesión por isquemia - reperusión^(7,8).

De Souza y cols.⁽³⁰⁾ han observado en neonatos con ECN una relación entre la extensión y el sitio de afectación in-

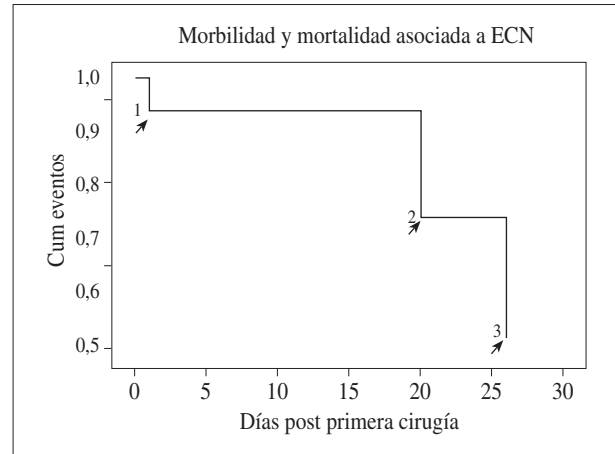


Figura 5. Eventos de morbilidad o mortalidad (flecha) asociada a la extensión de centímetros resecaos del intestino delgado y colon en pacientes con ECN avanzada. 1: fallece (48 cm); 2: intestino corto más fístula entero-cutánea (107 cm) y 3: colestasis sin sepsis (26 cm). RR: 1,04 p= 0,254.

testinal con la mortalidad. En el grupo de pacientes en los que solo el íleon estuvo afectado el riesgo de mortalidad fue bajo (OR= 1), mientras que si la afectación compromete el íleon, yeyuno y colon, el riesgo de fallecer aumentó en 2,85 veces. La mortalidad acumulada según Holman⁽²⁾ y Clark⁽¹⁵⁾ de los pacientes con ECN oscila entre el 10 y el 50%, mientras que Henry⁽⁶⁾ reportó el desarrollo de secuelas post-enterocolitis como: intestino corto, colestasis, estenosis o alteraciones del desarrollo neurológico. En nuestro estudio tres pacientes presentaron eventos de mortalidad o morbilidad asociados a resecciones intestinales mayores a 26 cm. Sin embargo, este riesgo de fallecer o presentar morbilidad fue muy bajo (RR= 1,04) y no significativo. Esto se explicaría quizás por el corto periodo de tiempo analizado (periodo neonatal). Sugerimos que para estudios posteriores se observe a largo plazo la presencia o ausencia de secuelas post-enterocolitis.

CONCLUSIONES

La disminución de la altura media de vellosidades, el mayor grado de lesión intestinal microscópico (Chiu) y la disminución de la población de células caliciformes condicionan a una mayor extensión de resección intestinal, lo que favorece el riesgo de fallecer o desarrollo de secuelas post-ECN.

BIBLIOGRAFÍA

1. Neu J, Chen M, Beierle E. Intestinal innate immunity: how does it relate to the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg.* 2005; 14 (3): 137-44.
2. Holman RC, Stoll BJ, Curns AT, Yorita KL, Steiner CA, Schonberger LB. Necrotizing enterocolitis hospitalisations among neonates

- in the United States. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2006; 20 (6): 498-506.
3. Lin PW, Stoll BJ. Necrotizing enterocolitis. *Lancet.* 2006; 368 (9543): 1271-83.
 4. Engum SA, Grosfeld JL. Necrotizing enterocolitis. *Curr Opin Pediatr.* 1998; 10 (2): 123-30.
 5. Caplan MS, Jilling T. New concepts in necrotizing enterocolitis. *Curr Opin Pediatr.* 2001; 13 (2): 111-5.
 6. Henry MC Moss RL. Neonatal necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg.* 2008; 17 (2): 98-109.
 7. Carrasco R, Pera M, May FE, Westley BR, Martínez A, Morales L. Trefoil factor family peptide 3 prevents the development and promotes healing of ischemia-reperfusion injury in weanling rats. *J Pediatr Surg.* 2004; 39 (11): 1693-700.
 8. Cáceres F, Castañón M, Morales L. Flujo mesentérico en un modelo experimental, enterocolitis necrotizante: isquemia-reperusión en ratas. Saarbrücken, Alemania: Editorial Académica Española; 2011.
 9. Lerena J. Estudio del efecto de la eritropeyentina sobre la lesión por isquemia reperusión en un modelo experimental de enterocolitis necrotizante. http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2502/JLR_TESIS.pdf?sequence=1. Universidad de Barcelona, 2010.
 10. Thompson AM, Bizzarro MJ. Necrotizing enterocolitis in newborns: pathogenesis, prevention and management. *Drugs.* 2008; 68 (9): 1227-38.
 11. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg.* 1978; 187(1):1-7.
 12. Walsh MC, Kliegman RM. Necrotizing enterocolitis: treatment based on staging criteria. *Pediatr Clin North Am* 1986;179-201.
 13. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101 (4): 478-83.
 14. Christensen RD, Gordon PV, Besner GE. Can we cut the incidence of necrotizing enterocolitis in half-today? *Fetal Pediatr Pathol.* 2010; 29 (4): 185-98.
 15. Clark RH, Gordon P, Walker WN, Laughon M, Smith PB, Spitzer AR. Characteristics of patients who die of necrotizing enterocolitis. *J Perinatol.* 2011 [Epub ahead of print].
 16. Puglisi RN, Whalen TV, Doolin EJ. Computer analyzed histology of ischemic injury to the gut. *J Pediatr Surg.* 1995; 30 (6): 839-44.
 17. Hsueh W, Caplan MS, Qu XW, Tan XD, De Plaen IG, González-Crussi F. Neonatal necrotizing enterocolitis: clinical considerations and pathogenetic concepts. *Pediatr Dev Pathol* 2003; 6 (1): 6-23.
 18. Guner YS, Chokshi N, Petrosyan M, Upperman JS, Ford HR, Grikscheit TC. Necrotizing enterocolitis--bench to bedside: novel and emerging strategies. *Semin Pediatr Surg* 2008; 17 (4): 255-65.
 19. Nowicki PT. Ischemia and necrotizing enterocolitis: where, when, and how. *Semin Pediatr Surg.* 2005; 14 (3): 152-8.
 20. Faure M, Moennoz D, Mettraux C, Montigon F, Schiffrin EJ, Obled C, et al. The chronic colitis developed by HLA-B27 transgenic rats is associated with altered in vivo mucin synthesis. *Dig Dis Sci.* 2004; 49 (2): 339-46.
 21. Ballance WA, Dahms BB, Shenker N, Kliegman RM. Pathology of neonatal necrotizing enterocolitis: a ten-year experience. *J Pediatr.* 1990; 117 (1 Pt 2): S6-13.
 22. Clamp JR, Creeth JM. Some non-mucin components of mucus and their possible biological roles. *Ciba Found Symp.* 1984; 109: 121-36.
 23. Laboisie CL. Structure of gastrointestinal mucins: searching for the Rosetta stone. *Biochimie.* 1986; 68 (5): 611-7.
 24. Gordon PV, Swanson JR, Attridge JT, Clark R. Emerging trends in acquired neonatal intestinal disease: is it time to abandon Bell's criteria? *J Perinatol.* 2007; 27 (11): 661-71.
 25. Shub MD, Pang KY, Swann DA, Walker WA. Age-related changes in chemical composition and physical properties of mucus glycoproteins from rat small intestine. *Biochem J.* 1983; 215 (2): 405-11.
 26. Fernández I, De Las Cuevas I. Protocolos de Neonatología: Enterocolitis necrotizante neonatal. *Bol Pediatr.* 2006; 46 (1): 172-8.
 27. Kosloske AM, Papile LA, Bruststein J. Indication for operation in acute necrotizing enterocolitis of the neonates. *Surgery.* 1980; 87 (5): 502-8.
 28. Sharma R, Tepas JJ 3r, Hudak ML, Wludyka PS, Mollitt DL, Garrison RD, et al. Portal venous gas and surgical outcome of neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg.* 2005; 40 (2): 371-6.
 29. Hunter CJ, Podd B, Ford HR, Camerini V. Evidence vs experience in neonatal practices in necrotizing enterocolitis. *J Perinatol.* 2008; 20 (1): s9-13.
 30. de Souza JC, Fraga JC. Is mortality rate influenced by the site of involvement in neonates undergoing laparotomy for necrotizing enterocolitis? *J Pediatr Surg.* 2009; 44 (8): 1534-9.