

## Nuevos desarrollos en la prevención y el tratamiento de la ECN

Nota del editor: Esta es una transcripción de una presentación en vivo realizada en noviembre de 2024. Se editó para brindar mayor claridad.



Misty Good, médica con una maestría en Ciencias  
Jefa de la División de Medicina Neonatal y Perinatal  
Codirectora del programa Pediatric Physician Scientist Training Program  
Universidad de Carolina del Norte en

Chapel Hill  
Chapel Hill, North Carolina

Hablaremos de los avances en la prevención y el tratamiento de la enterocolitis necrotizante (ECN). Todos sabemos que existe desde hace mucho tiempo y hablaremos un poco sobre la leche materna y algunas cuestiones que estamos haciendo en el laboratorio que, con suerte, en algún momento de nuestra carrera, se aplicarán en la práctica clínica.

Los objetivos de aprendizaje de la charla son realmente hablar sobre por qué creemos que ocurre la ECN, cuál es la patogénesis de la enfermedad, cómo podemos encontrar objetivos terapéuticos o estrategias preventivas y cómo podemos prevenir en efecto esa inflamación intestinal que ocurre o al menos aliviarla para que no progrese a ECN grave. Hablaré de algunas direcciones nuevas y emocionantes sobre la ECN para las que tenemos nuevos fondos y de algunos nuevos sistemas modelo. Con esas muestras que obtenemos de las que hablé anteriormente, estamos haciendo algunas cosas interesantes en el laboratorio para poder probar diferentes nutrientes, pero también diversos medicamentos, en intestinos prematuros, específicamente, con la esperanza de que podamos desarrollar enfoques de medicina personalizada. Mi esperanza es en realidad que tengamos enfoques de nutrición de precisión con todo el trabajo de la Dra. Belfort.

Para continuar con el tema de cómo construimos un mundo sin ECN, hay varios componentes, y uno de ellos comienza en el nivel del mecanismo. En el laboratorio, ¿qué está pasando? Todos sabemos que la leche materna es protectora y es lo mejor que tenemos para nuestros bebés, pero luego debemos pensar en otras terapias o estrategias novedosas sobre cómo podemos mejorar esa leche materna que reciben nuestros bebés, por ejemplo, y hablaré de algunas potenciales estrategias para eso. Ya mencioné la colaboración y el descubrimiento de biomarcadores, de los que no hablaremos mucho hoy. Pero hablaré un poco sobre lo que sucede en el laboratorio y, ciertamente, en mi programa de investigación, tenemos el componente clínico y traslacional, como comenté, pero también trabajamos con ratones todos los días, así que hablaré un poco sobre eso brevemente y haré una descripción general.

Lo que sabemos sobre la ECN y su patogénesis es que hay una respuesta proinflamatoria exagerada y, como mencioné anteriormente, tenemos esta disbiosis bacteriana que ocurre en estos bebés alrededor de 48 a 72 horas antes de un diagnóstico de ECN. ¿Y cómo podemos aprovechar esa información y recapitular lo que le está sucediendo al paciente en el laboratorio en varios sistemas modelo de animales u otros enfoques derivados de los humanos? Hay muchas lagunas de conocimiento en el campo, pero se desconocen muchas de las vías que regulan la respuesta inmunitaria. Y algunas de esas respuestas inmunitarias que tienen nuestros bebés son muy exageradas y, como todos saben, pueden morir repentinamente. ¿Cómo podemos modificar el sistema inmunitario para poder combatir la ECN u otras infecciones? El objetivo general de mi programa de investigación basado en el laboratorio es diseñar nuevas estrategias nutricionales epiteliales específicas o inmunoterapéuticas para prevenir la ECN, y hablaré un poco sobre las formas en que lo hacemos.

A la vanguardia de lo que hacemos, una vez más, está la colaboración con otros científicos, familias de pacientes y médicos que cuidan a estos bebés, por lo que estamos abordando esto desde muchas facetas diferentes. Tenemos un modelo de ratón de ECN, del que mostraré algunas imágenes y hablaré, que realmente profundiza en los estudios mecanicistas y cómo podemos eliminar diferentes áreas en varias vías y producir respuestas al fenotipo similar a la ECN. Hablaré del desarrollo de terapias novedosas y de una de nuestras patentes que tenemos sobre algunos trabajos de inmunoterapia. El objetivo de hecho son los enfoques preventivos, y ya hablé sobre el análisis de metilación del ADN y algunas otras secuenciaciones multiómicas que también estamos haciendo.

Cuando pensamos cómo vamos a abordar esto, como mencioné antes, queremos pasar de la atención del paciente al laboratorio y, desde luego, viceversa. Los modelos preclínicos o los modelos que podemos recapitular sobre la ECN en el laboratorio abarcan todo el espectro aquí. Por eso, ya comenté sobre los biobancos, pero solo hablaré brevemente sobre nuestros modelos de ratón, la ECN y algunos datos con una de las inmunoterapias que estudiamos.

Cuando desarrollamos sistemas modelo, como hablamos anteriormente, hay muchos factores de riesgo diferentes que predisponen a nuestros bebés a la ECN. Esto se trata, de hecho, en un buen artículo de revisión de la Universidad de California en Davis (UCD) en el que se puede ver que hay muchos factores diferentes que pueden predisponer a nuestros bebés a la ECN



## Nuevos desarrollos en la prevención y el tratamiento de la ECN

y, por lo tanto, no podemos incluirlos en cada uno de los modelos que probamos en el laboratorio. Sin embargo, podemos abordar una buena parte de ellos. Ciertamente, la disbiosis. Diré que es difícil mantener vivos a los animales prematuros en el laboratorio y, sin duda, no por falta de intentos, pero sí, desde mi punto de vista, por muchos fracasos en ese aspecto. Disbiosis, en realidad, inmunidad deteriorada: ¿cómo podemos modificar los alimentos con diversos aditivos y otros?

Veamos lo que sabemos sobre la ECN y lo que sucede a nivel celular. Entonces, estas son células epiteliales aquí, solo para orientarlos, y estas más oscuras están muriendo. Lo que sabemos gracias al buen trabajo que se realizó en los últimos 15 o 17 años más o menos es que existe un receptor inmune innato, específicamente llamado receptor tipo Toll 4 o TLR-4, que está presente en esas células epiteliales intestinales. Lo que creemos que sucede en un bebé prematuro (esto es mucho trabajo del laboratorio de David Hackam en Hopkins) es que hay un TLR-4 elevado en el intestino de nuestros bebés prematuros y en estas células epiteliales. Lo que sucede en el contexto de la disbiosis microbiana o este cambio en el microbioma que ocurre es que tiene lo que se llama lipopolisacárido o LPS presente en las bacterias gramnegativas. Y el LPS se une a este receptor y causa esta importante respuesta inflamatoria posterior que se produce. No es necesario conocer todas las diferentes vías de señales involucradas, pero lo que sucede es que se produce una respuesta inflamatoria extrema y hay muchas células inmunitarias diferentes involucradas y hay mucha inflamación, lo que realmente puede exacerbar la gravedad de la enfermedad y luego vemos esta lesión de las células epiteliales.

Todos hemos visto bebés que parecen estar sépticos y luego hay un hemocultivo negativo porque lo que creemos que está sucediendo es que estas bacterias pueden atravesar la barrera intestinal y realmente exacerbar la respuesta inmune. Tienen este cuadro sistémico similar al de la sepsis.

Lo que me gustaría que consideraran es que estos ratones neonatos que cuidamos son similares a los bebés en el sentido de que necesitan mucha atención y se deben alimentar con cuidado. Les mostraré algunas fotos de eso. En verdad no se alimentan solos, por lo que tengo un equipo increíble que se dedica a este trabajo.

Esta es una foto de uno de nuestros ratones neonatos. Pesan entre 1,7 y 2 gramos, de acuerdo, en cuanto a las diferencias de tamaño, pero lo que hacemos es mantenerlos con sus madres, son amamantados hasta el día 4 después del nacimiento. A los 4 días de edad, los separan de su mamá y luego comenzamos a alimentarlos manualmente. Este es uno de los investigadores posdoctorales en el laboratorio, es un catéter central de

inserción periférica (PICC) neonatal para alimentar a los ratones con una fórmula especial, una mezcla de fórmula para bebés a término y fórmula para cachorros para cambiar la osmolalidad de la fórmula. Luego agregamos LPS a la fórmula y también un microbioma de un bebé con ECN totalis. Básicamente, agregamos un microbioma humanizado a la fórmula para asegurarnos de que cambie el microbioma de estos ratones.

También los sometemos a hipoxia, es decir, 5 % de oxígeno dos veces al día. Todos sabemos que nuestros bebés tienen todas esas desaturaciones. A veces, pensamos que no son nada. Otras son muy profundas y en verdad pueden aumentar el estrés adicional del intestino de nuestros bebés y, ciertamente, también de nuestros ratones neonatos. Lo que hacemos es alimentar a estos ratones manualmente durante 15 horas al día de 7:00 a 22:00. De nuevo, hay un equipo dedicado que realiza este increíble trabajo que ya no debo hacer y estoy feliz por ello, fue parte de mi beca y proyecto de facultad al principio de mi carrera. Luego de 72 horas, así se ven los intestinos. Espero que se pueda apreciar la necrosis o el intestino moribundo aquí y allá hay neumatosis intestinal que se puede ver mediante observación. Quitamos el intestino, también extraemos sangre y otros tejidos y luego los procesamos.

Hablemos ahora de algunas de las nuevas terapias. Cuando pensamos cómo podemos probar varios fármacos en estos modelos animales, debemos pensar en lo que sabemos sobre la ECN. Por lo tanto, sabemos que la inflamación que vemos en la ECN está relacionada con la disfunción de la barrera intestinal, la pérdida de células madre intestinales y, entonces, el deterioro de la cicatrización de la mucosa. Es muy común ver esto cuando estamos al cuidado de bebés que no están bien y se extrae el intestino. Cuando era miembro de la facultad al principio de mi carrera, trabajé mucho con la leche materna y lo que específicamente en la leche materna protege contra la ECN, y hay muchas citoquinas presentes en la leche materna y una de ellas es la interleucina-22 (IL-22). Hay mucha información sobre la importancia de la IL-22 para la regeneración de las células madre intestinales y la regulación de la integridad de la barrera intestinal, y podría disminuir la inflamación intestinal en modelos animales adultos de enfermedades como la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn. Y la IL-22 puede mejorar la defensa antimicrobiana. Algo genial que sucedió es que salió un artículo increíble en *Nature*. Estas son imágenes de estos pequeños organoides intestinales, o lo que llamamos enteroides, que hacemos crecer en el laboratorio y, por lo tanto, son pequeños intestinos en miniatura de nuestros bebés. Introducimos un trozo de intestino en el laboratorio y aislamos las criptas o donde viven todas las células madre. Luego, las alimentamos con varios factores de crecimiento y pueden desarrollarse en el intestino. Lo que hizo este grupo fue agregar el factor de crecimiento epidérmico (EGF) como uno de



## Nuevos desarrollos en la prevención y el tratamiento de la ECN

los componentes de los medios. No tengo tiempo para hablar de eso hoy, pero algunos de mis primeros trabajos se centraron en el factor de crecimiento epidérmico presente en la leche materna. Por lo tanto, sacaron el EGF y agregaron IL-22 y los enteroides aumentaron el tamaño. Decidimos plantear que, tal vez, esto hace que la IL-22 sea una buena opción terapéutica para la ECN. Ya había ensayos clínicos sobre esto para la enfermedad de injerto contra huésped, la hepatitis alcohólica, de hecho, y ahora también para la COVID. Por lo tanto, repasaré estos estudios aquí.

En primer lugar, queríamos ver si la IL-22 es importante en los neonatos. Tomamos ratones neonatos a varias edades gestacionales, por lo que E15 aquí es el día embrionario 15 y los ratones generalmente nacen entre el día embrionario 18 y 19. Por lo que pueden ver aquí prenatalmente, en el intestino delgado, hay niveles muy bajos de IL-22 y estos niveles permanecen así en el ratón neonato hasta aproximadamente el destete, que es el día postnatal 21 a 28. En este momento, se les retira la leche materna, comen y estos son ratones normales. Estos ratones neonatos tienen una falta de producción de IL-22 al inicio del estudio. Podemos ver que esto es a nivel de ARNm, y esto es a nivel de la proteína. Basta con observar las diferencias entre los ratones de 1 y 8 semanas de edad.

Eso es genial, pero queríamos ver qué pasaba con la ECN, así que sometimos a los ratones a nuestro modelo experimental de ECN. Como se puede ver aquí, DF significa que recibe alimentación de la madre. Por lo que, en los ratones alimentados por la madre, se ven bonitas vellosidades intestinales de aspecto saludable aquí en esta histología. En los animales que se someten a nuestro modelo de ECN, se ve un trastorno de las vellosidades intestinales aquí e, incluso, la pérdida de varias de esas vellosidades. Pero cuando observamos los niveles de IL-22, pensamos, bueno, hay una inflamación exagerada, tal vez estos ratones tengan una IL-22 elevada. Lo que en realidad vimos fue lo contrario. A pesar de que la IL-22 no estaba de hecho presente cuando observamos la homeostasis o sin ECN, vimos una disminución significativa en el intestino delgado de estos animales. Luego, cuando observamos a una pequeña cohorte de personas, no vimos ninguna diferencia, por lo que surgió la pregunta: ¿los neonatos simplemente no tienen la capacidad de producir IL-22 y, si la complementamos de nuevo, eso protegería su intestino? Eso hicimos.

Evaluamos el tratamiento con IL-22 en varios momentos y mostraré algunas imágenes más, pero esto se publicó hace unos años. Es un trabajo realizado por un investigador posdoctoral, Ben Mihi, en el laboratorio. Los animales de control son los animales alimentados por madres expuestas a IL-22 recombinante o a la solución salina tamponada con

fosfato (PBS) como vehículo. Así, aun cuando recibieron una inyección con solución salina, pero no con la citoquina, el intestino se veía normal. Luego, cuando inyectamos PBS y los sometimos a nuestro modelo de ECN, de nuevo, se ve un trastorno de las vellosidades intestinales allí, coherente con la ECN experimental. Luego, cuando administramos IL-22 recombinante, vemos que el tratamiento atenúa esa lesión intestinal que observamos en la ECN experimental.

A continuación, quisimos analizar los marcadores proinflamatorios que intervienen en nuestros modelos. Uno de ellos es la interleucina-1-beta o IL-1-beta, por lo que se puede ver aquí a nivel de ARNm que los animales que recibieron IL-22 tuvieron una disminución significativa de la IL-1-beta a nivel de ARNm y también a nivel de la proteína, lo que demuestra que la IL-22 puede disminuir la respuesta proinflamatoria en la ECN. Luego quisimos ver lo que sucede a nivel de tejido en concreto. Estas son imágenes, imágenes confocales, que pueden ver aquí en verde, teñidas para el antígeno nuclear de proliferación celular o PCNA. El verde es un marcador de intestino sano, por lo que las células madre son saludables y están produciendo nuevas células epiteliales o células de absorción. Hay un verde claro aquí en la ECN más PBS y, cuando administramos IL-22, vemos que hay una mejora de la proliferación de células epiteliales.

Lo que queríamos ver es cuál es la dosis correcta y pensamos que, si se aumenta, es mejor, porque una de las cuestiones de la inmunoterapia es que la dosis debe ajustarse adecuadamente. Trabajamos con la Food and Drug Administration (*Administración de Alimentos y Medicamentos*, FDA) en las diferentes dosis, cómo sería un ensayo clínico y cómo podemos hacer esto en los ratones para luego trasladarlo a nuestros bebés. Esta es una muestra histológica de varias de esas dosis que analizamos. Se puede ver en esta primera dosis de IL-22 que los intestinos lucen mejor, pero aun así las vellosidades son un poco friables. Cuando se observa la dosis más alta aquí, son todavía un poco friables, no se ven tan bien como se verían en sus pares amamantados. Pero luego, en nuestra tercera dosis aquí, comenzamos a ver que los intestinos se parecen a lo que veríamos en un animal amamantado. Luego, en las dosis más altas, se veían muy bien y avanzaré rápidamente al punto culminante aquí. Cuando llegamos a esta dosis, comenzamos a ver una respuesta de citoquinas proinflamatorias. Podemos ver que la respuesta disminuye, pero luego podemos observar un aumento en la respuesta proinflamatoria aquí. Luego, trabajamos mucho más para ver cuál es el momento. Cuando se piensa en cuándo intervenir. Entonces, si se enfría al bebé, por ejemplo, y quieren comenzar esa terapia en el plazo de 6 horas, eso es lo que estamos tratando de abordar para los bebés que, ciertamente, no lo haríamos en nuestro centro porque no podemos inscribirlos en un ensayo clínico de inmediato. ¿Cuál es el



## Nuevos desarrollos en la prevención y el tratamiento de la ECN

momento en el que se produce el corte? ¿Cuándo es demasiado tarde para poder administrarles una inmunoterapia para poder aliviar la enfermedad?

Diré que el resumen provisional de esto es que encontramos que la expresión de IL-22 es baja en el intestino humano y del ratón en desarrollo y que el tratamiento con IL-22 puede aliviar parte de la inflamación intestinal observada en la ECN experimental. Una de las cuestiones en las que estamos realmente interesados, como dije, es que la inmunoterapia es genial, pero debe haber una forma en la que podamos modificar potencialmente el entorno intestinal con la dieta previa a la ECN. Hicimos un proyecto hace unos años, ya que estábamos trabajando en este ensayo de IL-22. Hay varios factores dietéticos que pueden regular el aumento de la IL-22, específicamente estos ligandos del receptor de hidrocarburos arílicos, o ligandos AhR, que están presentes en la leche materna y también en las verduras de hoja verde. Estamos realmente interesados en si podemos regular la dieta del bebé, pero también la de la madre para producir una mejor leche materna o poder tener un efecto en la inmunidad de su bebé.

Uno de los ligandos del receptor de hidrocarburos arílicos que observamos se llama indol-3-carbinol, o I3C para abreviar, y esta es una histología que se puede ver. Estos son, de nuevo, los animales alimentados con leche materna de los que hablé, pero entonces, en los animales con ECN, este es el control del vehículo en comparación con los tratados con I3C. Se puede ver en los animales a los que se les suministró I3C un intestino sano y agradable. Observamos algunos marcadores diferentes, incluida la IL-1-beta, como mencioné, y también la lipocalina-2, que es un marcador proinflamatorio. Se ven disminuciones en los animales sometidos a ECN que recibieron I3C. Y la Cyp1a es un marcador que muestra simplemente que se activó la señalización del receptor de hidrocarburos arílicos. Es un marcador posterior que muestra que, efectivamente, los animales recibieron el fármaco y la Cyp1a se activó en el intestino.

Tomamos el intestino y realizamos la secuenciación masiva de ARN solo para ver cuáles son las diferentes vías involucradas. Este es un diagrama de volcán, y se puede ver que hay muchos genes diferentes regulados en ascenso y descenso, y acabo de destacar algunos de ellos aquí. Pero quiero que vean que hay muchas vías diferentes que se regulan con este ligando AhR, específicamente, la regulación en aumento de la vía del metabolismo del triptófano. Hay muchos datos emergentes que muestran ahora que estos metabolitos pueden en efecto alterar la inmunidad intestinal, lo que es fantástico. Pero, en términos de regulación en descenso, es decir, la interacción del receptor de citoquinas, muchas de esas citocinas proinflamatorias que están reguladas en ascenso, en la ECN,

están reguladas en descenso. Estábamos emocionados al ver esa regulación en descenso.

Lo podemos hacer en el laboratorio con ratones, pero cómo se traduce eso realmente y, sé que todos ustedes se preguntan, por qué es esto importante para mí. Ya hablé sobre el biobanco y realmente queremos usar muchas de esas muestras en el laboratorio. Una de las formas en que lo hacemos es en este modelo de órgano en un chip. Hablé de esos pequeños organoides intestinales que son intestinos en miniatura que creamos en el laboratorio, pero les diré lo que hacemos con ellos: los ponemos en los chips.

¿Cómo lo hacemos? Obtenemos un trozo de intestino del quirófano o cuando el bebé se somete a una cirugía y aislamos las criptas o la base del intestino y, luego, podemos cultivarlos nuevamente en el laboratorio con esos diversos factores de crecimiento. En última instancia, esto es solo un esquema de lo que vieron en la imagen anterior, pueden ver estos pequeños enteroides o intestinos en miniatura. Luego, después de hacerlos crecer, podemos dividirlos un poco, disociarlos en fragmentos y, luego, ponerlos en este excelente chip microfluídico. Les mostraré algunas otras imágenes. Pero lo que se ve en una sección transversal después de que crecen es que podemos desarrollar un buen epitelio intestinal, como pueden ver. Aquí hay una bonita membrana recubierta de matriz extracelular y luego podemos poner células endoteliales o, incluso, células inmunitarias en la cámara inferior y ver cómo interactúan.

Esto es solo un esquema de cómo se ve el chip y su pequeño soporte. Se pone el chip, que está aquí, en esta cápsula y esta cápsula brinda sus medios o lo que quieran que reciban. Varios fármacos, se los puede alimentar con fórmula o leche materna o diferentes componentes de cada uno. Esas cápsulas se colocan en el módulo de cultivo. Lo que hace el módulo de cultivo en realidad es brindar medios, fármacos o alimentos continuos, lo que sea que se desee hacer, ofrece un flujo continuo. Y luego también este módulo, este módulo de orbe, estira el chip para imitar el peristaltismo en el intestino.

Este es uno de esos modelos de cultivo celular muy avanzados, pero es realmente genial. Así se ven esos enteroides. De nuevo, los disociamos para ponerlos en el chip, así se ven. Después de 3 días, estas células se combinan aquí y se consigue esta monocapa epitelial neonatal, bonita y plana. Pero luego, con ese flujo y estiramiento continuo del medio, se ve que comienza un epitelio y se pueden ver estas pequeñas grietas allí. Para el día 8, comenzamos a ver, recuerdan que les mostré esas vellosidades intestinales, esos ejes en forma de vellosidades que se desarrollan y les mostraré cómo se ven en sección transversal. Este es un trabajo que fue realmente iniciado por



## Nuevos desarrollos en la prevención y el tratamiento de la ECN

Wyatt Lank, un estudiante del curso introductorio a medicina en mi laboratorio.

En sección transversal, se ven así. Estas bonitas vellosidades intestinales, se puede ver que las teñimos para varios marcadores epiteliales, como la villina y (inaudible), solo para mostrar realmente la estructura de las vellosidades. Aquí hay una imagen de cerca y, luego, cuando colocamos color, estos glóbulos rojos son células caliciformes. Realmente queríamos ver cuáles son todos los diferentes tipos de células que hay. Hay células epiteliales, bellas células caliciformes que producen mucosidad.

Ahora que podemos hacer crecer el intestino en un chip, ¿cómo podemos regular la ECN en un chip? Si consideramos lo que sabemos de los modelos animales que hicimos, sabemos que la disbiosis es realmente importante. No hablé de eso antes, pero en nuestro modelo de ratón, si no hay disbiosis, no hay ECN. Si no hay hipoxia, hay menos inflamación intestinal. Realmente se necesitan todos esos componentes diferentes. Cuando regulamos la ECN en un chip, queríamos ver cuáles son los diferentes componentes que necesitan, si necesitan LPS, solo bacterias, etc.

Empezamos con las bacterias porque sabemos lo importantes que son para la enfermedad humana. Tomamos la misma suspensión bacteriana, o la llamamos NECteria para abreviar, ese microbioma bacteriano de un bebé con ECN totalis. Estandarizamos eso, ciertamente la cultivamos, tenemos cultivos individualizados y cultivamos bacterias de las heces o del intestino de todos los bebés en nuestros estudios cuando podemos. Añadimos eso al chip. Y el punto culminante, les mostraré algunos datos, pero el punto culminante es que encontramos citoquinas proinflamatorias reguladas en ascenso y, luego, redujimos la proliferación epitelial, que es importante en la ECN, como mencioné en nuestros estudios con ratones, y después realmente alteramos la integridad de la barrera intestinal. Lo bueno de este modelo es que realmente podemos aumentar o disminuir la cantidad de inflamación que queremos ver, por lo que les mostraré algunas de esas cuestiones aquí.

Queríamos ver los diferentes marcadores celulares. Estos son diferentes marcadores de células epiteliales y de células madre. LGR5 es un marcador de células madre, MUC23 es un marcador de células caliciformes, la lisozima es un marcador de células de Paneth y la cromogranina A es uno de los marcadores enteroendocrinos. Se puede ver en la ECN humana que esto es justo lo que sucede en la condición humana en el intestino, se ven disminuciones en muchos de esos marcadores. Como ya mencioné y como ya sabemos, hay un aumento en las citoquinas proinflamatorias y, de nuevo, una disminución en la

proliferación de PCNA, pero también KI67 es otro marcador de proliferación.

Cuando observamos nuestro modelo de ECN en un chip, los chips de control son solo medios. No son un microbioma normal, son solo medios. Hicimos muchos estudios diferentes sobre varios microbiomas y cómo afectan al chip, pero estos son solo chips inocuos con medios. Y así, en nuestro modelo de ECN en un chip, se puede ver que hay una disminución de los marcadores de células madre, una disminución de las células caliciformes, de las células de Paneth y de todos esos diferentes tipos de marcadores, así como un aumento de las citoquinas proinflamatorias y una disminución de la proliferación.

Así se ve esto mediante microscopía confocal. Así que, de nuevo, en la parte superior, aquí está el intestino humano, el control y la ECN. Este es simplemente un intestino normal que teñimos para todos los diferentes marcadores que acabamos de mencionar, enteroendocrino, proliferación, células de Paneth y células caliciformes, y lo que quiero que aprecien aquí es que no se ve mucho rojo. El azul no es más que una mancha nuclear. En nuestro modelo de ECN en un chip, como se puede ver en los controles, aparecen todos esos diferentes tipos de células de los que hablamos, y también tienen una buena proliferación de enterocitos, pero en la ECN se observa que disminuyen significativamente. Este es el modelo de ECN en un chip.

Queríamos analizar las uniones estrechas, recuerdan que hablé sobre cómo la integridad de la barrera intestinal es tan importante en la ECN, por lo tanto, vemos una pérdida significativa de uniones estrechas en la ECN en un chip. En nuestros controles en varios momentos, se ve una bonita mancha verde aquí de la zonula occludens 1 y se observa una disminución progresiva y la pérdida de esas uniones estrechas. Se puede ver que las células comienzan a morir y hay menos células allí, después de 72 horas.

Cuando miramos por secuenciación de nuevo, para ver todas esas vías que están involucradas en los chips en varios momentos, vemos muchas de las mismas cuestiones que vemos en nuestra condición humana. La apoptosis, todas las diferentes células, los tipos de muerte celular, la necroptosis y todas las diferentes vías de citoquinas, la señalización del factor inducible por hipoxia (HIF) y de la IL-17, la señalización TNF, etc., todos están regulados en ascenso en nuestros chips en varios momentos.



## Nuevos desarrollos en la prevención y el tratamiento de la ECN

En conclusión, la ECN en un chip es un nuevo y prometedor modelo de ECN derivado del paciente. Lleva un tiempo, así que en términos de medicina personalizada no puedo venderlo así todavía, pero recapitula muchas de las características que se ven en la ECN humana. Tenemos una subvención para analizar el uso de la plataforma de ECN en un chip e incluso el intestino neonatal en una plataforma de chip para ver cómo los diferentes fármacos y los diversos aditivos nutricionales afectan esas uniones estrechas y los distintos marcadores celulares en el chip. En resumen, no siempre tenemos que probar estas cuestiones necesariamente en un ensayo clínico. Podemos hacerlo primero en un modelo preclínico derivado de humanos. También estamos haciendo un descubrimiento continuo de biomarcadores. Espero haberles brindado una descripción general de nuestro programa de investigación de ECN y hablado sobre nuestros diferentes modelos in vitro de ECN. Solo para mencionarlo aquí, sé que esta enfermedad realmente puede ser devastadora y nuestros pacientes y familias de verdad dependen de nosotros para tener esperanza, así que sigan con la lucha contra la ECN de cualquier manera que puedan.

🕒 *Para completar este curso y reclamar su crédito, haga clic [aquí](#).*



**ANNENBERG CENTER  
FOR HEALTH SCIENCES  
AT EISENHOWER**

*Imparting knowledge. Improving patient care.*

Esta actividad está respaldada por una subvención educativa de  
**Mead Johnson Nutrition.**