

Efecto de la octreótida en la preservación del intestino delgado

J. González-Uriarte, I. Landa, M. Grau, F. Martínez, J. Álvarez Caperochipi y J.L. Balibrea Cantero
Servicio de Cirugía. Hospital Santa María de la Asunción. Tolosa. Guipúzcoa.

Resumen

Introducción. La preservación de la mucosa intestinal ofrece resultados desalentadores que influyen en la viabilidad del injerto y supervivencia del paciente. El objetivo es valorar si la octreótida es capaz de prolongar el tiempo de preservación y mejorar la calidad del injerto intestinal.

Material y métodos. Se han empleado 60 animales (ratas Wistar) distribuidos en dos grupos, octreótida y control, en cada uno de los cuales se ha practicado la extracción y preservación del injerto de intestino delgado (6, 12, 24 h). Posteriormente, se cuantificó el contenido de TNF-alfa intraluminal y se valoró el grado de daño histológico.

Resultados. El grupo tratado con octreótida presentó un descenso significativamente estadístico del contenido de TNF intraluminal; asimismo, presenta de forma consistente un menor grado de daño histológico en todas las clasificaciones empleadas.

Conclusiones. El efecto citoprotector de la octreótida, su capacidad de inhibir la liberación de proteasas lumbales por parte del páncreas, así como su acción estabilizadora sobre el mastocito mesentérico pueden explicar que disminuya el daño total, ampliando la "ventana" terapéutica.

Palabras clave: Intestino delgado. Preservación. Octreótida.

(*Cir Esp* 2001; 69: 13-17)

EFFECT OF OCTREOTIDE IN SMALL BOWEL PRESERVATION

Introduction. In terms of graft viability and patient survival, the outcome of the preservation of the bowel mucosa is discouraging. The objective of the present study was to assess the role of octreotide in prolonging the preservation time of the intestinal graft and improving its quality.

Material and methods. Small bowel grafts were resected from 60 Wistar rats and preserved for 6, 12 or 24 hours in the presence or absence of octreotide. Subsequently, the level of intraluminal tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and the degree of histological damage were determined.

Results. The group treated with octreotide presented a statistically significant decrease in intraluminal TNF- α and consistently showed less histological damage according to all the classifications applied.

Conclusions. The cytoprotective effect of octreotide, its capacity to inhibit the release of luminal proteases by the pancreas and its stabilizing effect on mesenteric mast cells are responsible for the reduction in overall damage, widening the therapeutic window.

Key words: Small intestine. Preservation. Octreotide.

Introducción

El trasplante de intestino delgado ha experimentado grandes avances gracias a la utilización de los nuevos agentes inmunosupresores. Sin embargo, la preservación de la mucosa intestinal ofrece resultados desalentadores que influyen en la viabilidad del injerto y supervivencia del paciente.

Actualmente, el trasplante de intestino delgado se enfrenta al objetivo de prolongar el tiempo de preservación, abriendo la posibilidad de conseguir una buena compatibilidad inmunológica y la eliminación de bacterias potencialmente patógenas, así como la manipulación de la carga inmunológica del injerto, lo que favorece fenómenos de tolerancia que permitan una supervivencia del injerto a largo plazo.

Por otro lado, se debe mejorar la calidad del injerto intestinal, reduciendo el daño total del injerto, el cual condiciona episodios de rechazo más frecuente e intensos, así como la translocación bacteriana responsable de fenómenos de sepsis, considerada la primera causa de muerte.

Con estos objetivos hemos utilizado la octreótida, que posee un conocido efecto citoprotector directo sobre la mucosa intestinal.

Correspondencia: Dr. F. Martínez García.
Servicio de Cirugía. Hospital Santa María de la Asunción.
Ctra. de Izaskun, 9. 20800 Tolosa. Guipúzcoa.

Aceptado para su publicación en julio del 2000.

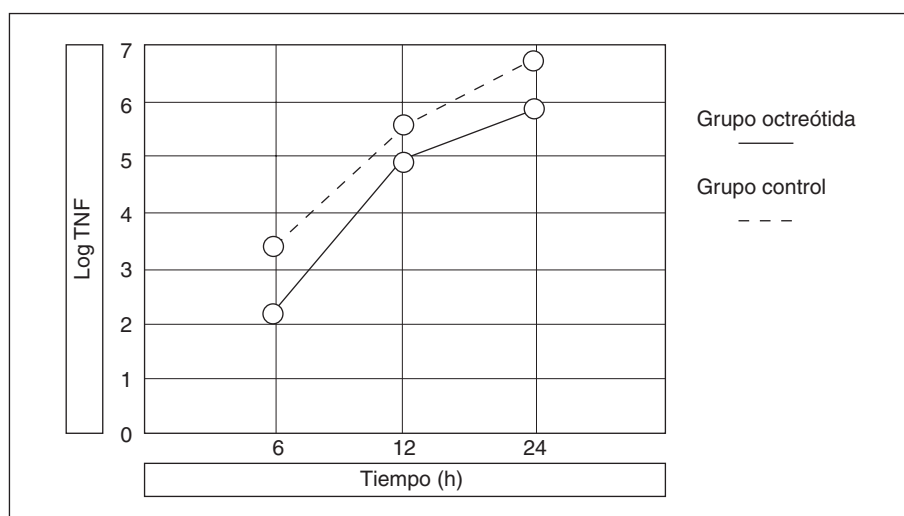


Fig. 1. Evolución de los valores medios de TNF-alfa.

tinal. Además, por su inhibición de la secreción exocrina del páncreas, así como por su capacidad para modular la degranulación de los mastocitos mesentéricos, logra disminuir la liberación de sus mediadores (histamina, TNF-alfa), lo cual podría atenuar su acción lesiva local.

Material y métodos

Se han empleado 60 ratas Wistar machos, con un peso de 250 ± 50 g. Todos los animales fueron alimentados con pienso estándares y se mantuvieron en condiciones naturales con respecto al ciclo de luz-oscuridad, siguiendo en todo momento las indicaciones dictadas por la declaración de Helsinki. Los animales fueron criados y tratados con rigurosa ética, tal como recoge la legislación española en el Real Decreto 223/1988, del 14 de marzo, sobre la protección de animales utilizados con fines experimentales.

Los 60 animales fueron distribuidos en dos grupos: uno tratado con octreótida ($n = 30$) y otro control ($n = 30$), en cada uno de los cuales se practicó la extracción del injerto de intestino delgado.

Se procedió a la anestesia del animal con ketamina (10 mg/100 g), diazepam (0,75 mg/100 g) y atropina (0,05 mg/100 g) por vía intraperitoneal. Se utilizó el procedimiento de extracción modificado por Zhong¹ a partir de la técnica de Monchik y Russell.

Se realizó una laparotomía media, exponiendo el marco cólico, que nos permite la ligadura de las arterias cólica izquierda, media, derecha, así como los vasos ileocecales.

Expusimos el marco gastroduodenal para la disección de las venas porta y mesentérica superior que exige la ligadura y sección de las arterias y venas pancreatoduodenales media e inferior. El intestino delgado se seccionó en el ángulo duodeno-yeyunal y el íleon, siendo resecado el resto de intestino.

Un segmento largo de la aorta que contiene la arteria mesentérica superior se disecó mediante ligadura y sección de la arteria renal derecha, colocando una ligadura por encima del origen de la arteria mesentérica superior que fue anudada justo antes de iniciar la perfusión.

Seguidamente, el tronco celíaco, así como las venas tributarias de la porta (vena pilórica y esplénica), se ligaron, quedando esta última libre hasta su entrada en el hilio hepático.

La aorta fue canulada mediante un fino catéter de polietileno, que hicimos progresar hasta el origen de la arteria mesentérica superior. Se anudó la aorta sobre dicho catéter y se inició la perfusión del injerto con 2 ml de solución de Wisconsin, comprobando el libre flujo de la solución por el eje mesentérico-portal, momento en que se seccionó la vena porta para evitar la congestión esplánica. La presión de perfusión nunca excedió de 30 cmH₂O.

El intestino y su pedículo vascular se resecaron y almacenaron en solución de Wisconsin a 4 °C durante los distintos períodos de conservación (6, 12 y 24 h). Al término de dichos períodos, se recogió el contenido intraluminal y se centrifugó a 2.500 rpm durante 15 min; el plasma obtenido se conservó en criotubos a una temperatura de -70 °C, hasta la cuantificación del TNF, mediante el kit Mouse Tumor Necrosis Factor Elisa Test Kit-Genzyme.

Posteriormente, el segmento intestinal se sumergió en formol al 10% durante un período no inferior a 7 días. Se obtenían tres muestras, valorando aquella que presentaba el mayor grado de daño histológico, según las clasificaciones de Chiu, Park y Schweiz.

Para la descripción de los datos se ha utilizado la media y la desviación estándar. En las representaciones gráficas se ha utilizado el error estándar como medida de la precisión de las estimaciones. Para valorar la eficacia potencial del tratamiento con octreótida, se ha realizado un análisis de la variancia (ANOVA) factorial bilateral. Se ha considerado un efecto estadísticamente significativo si el valor de p asociado a su contraste de hipótesis era inferior a 0,05.

La variable TNF ha sido transformada mediante el cálculo del logaritmo natural de dicha variable + 0,5.

Para la comparación entre grupos de las variables histológicas se ha utilizado el test de la χ^2 de Pearson. Para su descripción numérica y gráfica se han utilizado las medias, desviaciones estándar y error estándar.

Resultados

El tiempo de preservación hipotérmica es, evidentemente, el factor independiente que más importancia ha tenido, tanto en el comportamiento de los valores medios de TNF-alfa (ANOVA,

$p < 0,001$) como en el grado de lesión histológica (χ^2 de Mantel y Haenszel, $p < 0,001$) (fig. 1).

El grupo tratado con octreótida presentó un descenso significativamente estadístico (ANOVA, $p = 0,002$) del contenido de TNF-alfa intraluminal frente al grupo control. Este efecto de la octreótida sobre los valores de TNF-alfa intraluminal se apreció para todos los tiempos de preservación (término de interacción octreótida-tiempo no significativo, $p = 0,265$). El grupo tratado con octreótida presentó de forma consistente un menor grado de lesión histológica en todas las clasificaciones empleadas, sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (figs. 2 y 3).

Existió gran consistencia en los datos, en el sentido de que tanto el comportamiento de los valores de TNF-alfa en el tiempo y su diferencia entre grupos como las clasificaciones de lesión histológica presentaban un comportamiento homogéneo. En todos los tiempos de preservación hipotérmica, el grupo tratado con octreótida presentó un mejor comportamiento que el grupo control, con valores inferiores de TNF-alfa intraluminal y con mejores resultados histológicos.

Discusión

Bounous et al² propusieron el concepto de *tryptic enteritis* cuando demostraron que la lesión intestinal provocada por el shock hemorrágico era atenuada mediante la infusión intraluminal del inhibidor de proteasas, aprotinina o mediante la ligadura del conducto pancreático. La autodigestión isquémica fue el mecanismo propuesto para la lesión mucosa hemorrágica, aunque también se ha sugerido que durante la lesión isquémica hay un aumento de la permeabilidad celular que permite el acceso de las proteasas al medio intracelular, donde catalizan la conversión de D a O xantino-oxidasa, lo cual, junto con la reintroducción de oxígeno durante la reperfusión, produce radicales libres de oxígeno³. Buscando la aplicación clínica, Morris et al⁴ decidieron ligar médicamente el conducto pancreático utilizando un potente inhibidor exocrino, la octreótida. Observaron que el grupo tratado con octreótida presentaba una significativa reducción intraluminal de tripsina sin que el flujo sanguíneo portal se viera afectado. Asimismo, los animales tratados presentaban una lesión histológica menor durante la isquemia y una menor extensión de ésta durante la reperfusión.

Fig. 2. Necrosis en la mitad de las vellosidades. Preservación hipotérmica: 12 h MO (HE, $\times 25$).

Nauta et al⁵, entre otros autores, han podido observar el efecto beneficioso de los bloqueadores de calcio en un modelo de isquemia hepática en ratas, ya que impiden el aumento de la concentración de calcio que activaría la proteasa que, a su vez, cataliza el paso de xantina-deshidrogenasa a oxidasa.

En este sentido, el calcio intracelular y extracelular puede ser modulado por la octreótida, bien directamente bloqueando los canales de calcio al producir una hiperpolarización de la membrana al aumentar la conductancia al potasio (bloquea los canales de calcio dependientes del voltaje), o indirectamente a través de su efecto modulador de los nucleótidos cíclicos (AMPc y GMPc).

La viabilidad celular tras un proceso de isquemia-reperfusión quedará determinada, en parte, por su capacidad para resintetizar ATP después de la reperfusión. En este sentido, Landa et al demuestran que tras la perfusión de SS-14, el AMPc tisular preischemia se incrementa, disminuyendo por el contrario el GMPc⁶. Postula que la SS-14 actuaría como citoprotector hepático, al producir un aumento de prostaciclina (PGI₂).

En un modelo experimental de pancreatitis aguda necrohemorrágica⁷ se observó que la administración de somatostatina aumentaba de forma precoz, brusca y muy significativa la concentración esplácnica de PGE₂, junto con una mayor supervivencia de los animales tratados. La PGE₂ produce vasodilata-

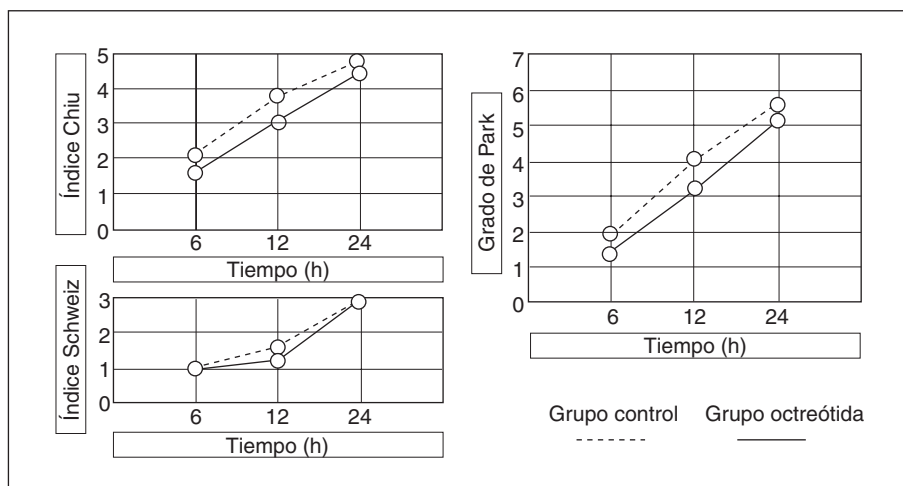


Fig. 3. Estudio comparativo de la lesión histológica.

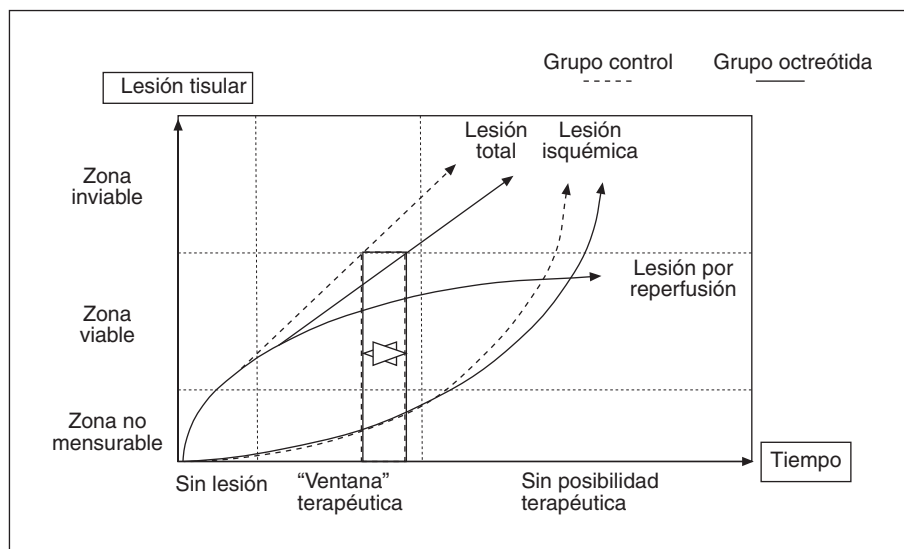


Fig. 4. Relación entre la lesión tisular producida en el grupo control y el grupo tratado con octeotricia.

ción esplácnica en diversas especies animales y podría mejorar la microcirculación intestinal⁸.

Por otro lado, la octeotrida aumenta la liberación de *mucosal calcitonin gene-related peptide*, que ha sido identificado como un potente vasodilatador esplácnico⁹.

La somatostatina puede inhibir la liberación de agentes vasoactivos, como el péptido intestinal vasoactivo (VIP), evitando el fracaso de la microcirculación, así como la aparición de edema y hemorragia en la pared intestinal¹⁰. También inhibe la producción de elastasa derivada de leucocito¹¹, lo cual es importante en la infiltración por leucocitos que exacerban la lesión mucosa intestinal durante la isquemia y reperfusión, como lo demuestra la concentración de mieloperoxidasa en los tejidos.

Crivellato et al¹², en 1991, observaron la relación microanatómica en el mesenterio de la rata, entre los mastocitos y las fibras nerviosas que contienen neuropéptidos, entre ellos la somatostatina. Varios años antes ya se apuntaba la posible existencia de receptores de somatostatina en el mastocito.

El trabajo de Landa y Balibrea¹³ demuestra que la infusión de SS-14 ejerce un papel modulador en la degranulación de los mastocitos mesentéricos de la rata, logrando una conservación de un mayor número de mastocitos y consiguiente liberación de mediadores por parte de éstos.

Desde los trabajos de Young et al¹⁴ y, posteriormente, los de Gordon y Galli¹⁵, se sabe que los mastocitos son capaces de producir TNF-alfa, comprobándose que su concentración intraluminal es menor en los animales a los que se les perfundió somatostatina.

En nuestro trabajo, esa diferencia fue estadísticamente significativa (ANOVA, $p = 0,002$). La menor degranulación de los mastocitos mesentéricos obtenida por la octeotrida también disminuye la acción lesiva local que origina la histamina. Ésta parece desempeñar un papel importante en la lesión tisular. Ackroyd et al¹⁶ han especulado que la liberación local de histamina produce edema, una excesiva secreción de moco, dilatación vascular (receptores H_1 vasculares) y, finalmente, hemorragia mucosa. Por otro lado, la histamina estimula la actividad de la xantina-oxidasa que aumenta los radicales libres de oxígeno¹⁷.

Todas estas acciones de la octeotrida pueden contribuir a explicar por qué de forma consistente y en todas las escalas de valoración de la lesión histológica utilizadas se observa una menor lesión isquémica en el grupo tratado con esta sustancia.

Esta mejoría en el grado de lesión histológica significa que la lesión isquémica, en los animales tratados con octeotrida, es menor (fig. 4).

Podemos deducir que la octeotrida actuaría disminuyendo la lesión total, ampliando la "ventana" terapéutica, es decir, aumentando el tiempo de preservación durante el cual el injerto intestinal es viable.

Bibliografía

1. Zhong R, Wang P, Chen F, Sutherland D, Duff J, Grant D. Surgical techniques for orthotopic intestinal transplantation in rats. *Transplant Proc* 1990; 22: 2443-2444.
2. Bounous G, Brown RA, Molder DS, Hamson LG, Gurd FN. Ablation of tryptic enteritis in the shocked dog. *Arch Surg* 1965; 91: 371-375.
3. Montgomery A, Borgstrom A, Haglund U. Pancreatic proteases in the intestinal mucosal injury after ischemia reperfusion in the pig. *Gastroenterology* 1992; 102: 216-222.
4. Morris JB, Guerrero NH, Furth EE. Somatostatin attenuates ischemic intestinal injury. *Am J Surg* 1993; 165: 676-680.
5. Nauta R, Uribe M, Walsh D. Histopathologic correlates of murine hepatic ischemic reperfusion injury: evidence from a chronic in vivo model. *J Inv Surg* 1988; 1: 155-162.
6. Landa García JJ, Llanos Egúez K, Moreno A. Papel de la prostaciclina y nucleótidos cíclicos en el efecto citoprotector de la somatostatina-14 en un modelo de isquemia-reperfusión en rata. *Cir Esp* 1992; 52: 396-401.
7. Landa García JJ, Arias J, Gómez M. Efecto de la somatostatina sobre la supervivencia y los niveles de PGE2 en un modelo de pancreatitis necrohemorrágica en el perro. *Gastroenterol Hepatol* 1991; 14: 481-487.
8. Houvenaghel A, Schrauwen E, Wechsung L. Influence of primary prostaglandins, prostacyclin and arachidonic acid on mesenteric hemodynamics in pig. *Prostaglandins* 1980; 2: 83-86.
9. Uddman R, Edvinsson L, Ekblad E, Hakanson R, Sundler E. Calcitonin gene-related peptide (CGRP): perivascular distribution and vasodilatory effects. *Regul Pept* 1986; 15: 1-23.

10. Mulvihill S, Pappas T. Efectos de la somatostatina en la obstrucción intestinal. *Ann Surg* 207: 169-173.
11. Adeyemi EO, Savag AP, Bloom SR, Hodgson HJF. Somatostatin inhibits neutrophil elastase release in vitro. *Peptides* 1990; 11: 869-871.
12. Crivellato E, Damiani, Mallard F. Suggestive evidence for microanatomical relationship between mast cells and nerve fibres containing substance P, calcitonin gene related peptide, vasoactive intestinal polypeptide and somatostatin in the rat mesentery. *Acta Ana Basel* 1991; 14: 127-131.
13. Landa JI, Balibrea JL. Nuevas aplicaciones de la somatostatina en la clínica quirúrgica. Efecto de la somatostatina sobre el factor de necrosis tumoral (TNF-alfa) y los mastocitos mesentéricos en la obstrucción intestinal. Edit. Garsi, 1994.
14. Young ID, Liu CC, Butler ZA. Identification, purification and characterization of mast cell associated cytolytic factor related to human necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 9175-9179.
15. Gordon JR, Galli SJ. Release of both preformed and newly synthesized tumor necrosis factor- α /cachectin by mouse mast cells stimulated via the Fc ϵ RI. A mechanism for the sustained action of mast cell-derived TNF- α during IGE-dependent biological responses. *J Exp Med* 1991; 174: 103-107.
16. Ackroyd EB, Man WK, Simpkin S, Parkin JV, Green CJ. Plasma and mucosal histamine after small bowel transplantation. *Ag Act* 1991; 33: 157-160.
17. Caty MG, Schmeling DJ, Friedl HP, Oldham KT, Guice KS, Till GO. Histamine: a cat promoter of xanthine oxidase activity in intestinal ischaemia/reperfusion. *J Paediat Surg* 1990; 25: 218-223.

