

Aumento de la litogenicidad biliar tras la administración conjunta de nutrición parenteral total y octreótida. Un modelo de formación de cálculos de palmitato cálcico

J.M. Rodríguez Santiago^a, E.M. Targarona^b, E. Ros^c, J. Martínez^c, E. Poca^c, M. Vela^c, J. Massó^d, A. Nadal^e, C. Marco^a y M. Trias^b

^aServicio de Cirugía General. Hospital Mutua de Terrassa. Universidad de Barcelona. ^bServicio de Cirugía General. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. ^cInstitut de Malalties Digestives. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi-Sunyer (IDIBAPS). Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. ^dServicio de Farmacología Clínica. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona. ^eLaboratorio de Patología. Hospital Casa de Maternitat. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona.

RESUMEN

La estasis vesicular y la formación de cálculos son alteraciones conocidas tras la administración prolongada de la nutrición parenteral y del tratamiento con octreótida. La administración conjunta de ambos tratamientos, por ejemplo en las fístulas intestinales, puede potenciar estos efectos nocivos de ambos fármacos en la función hepatobiliar. En este estudio se ha valorado el riesgo en la formación de litiasis vesicular y alteraciones hepáticas durante el tratamiento con nutrición parenteral total y octreótida por separado y de forma conjunta. Para ello se estudiaron 32 conejos New Zealand distribuidos en 4 grupos durante un período de 2 semanas: 14 controles, seis alimentados con nutrición parenteral total, seis con dieta oral y administración de octreótida y otros seis a los que se administró nutrición parenteral total y octreótida. Al finalizar las 2 semanas se canuló el conducto hepático, se realizó la colecistectomía y una cuña de tejido hepático para su estudio histológico. Se determinó el volumen vesicular y en la bilis hepática y vesicular se valoraron los lípidos biliares, la bilirrubina, el calcio y las proteínas totales, y se llevó a cabo el examen microscópico de la bilis. Se analizó la composición química de los cálculos. Los resultados sugieren que, en nuestro modelo experimental, la administración de nutrición parenteral y octreótida de forma conjunta presenta un efecto aditivo en la estasis vesicular y en la litogénesis biliar. La administración de estas 2 terapias puede ser un modelo de la formación de cálculos de palmitato cálcico en estos animales.

INCREASED BILE LITHOGENICITY AFTER SIMULTANEOUS TOTAL PARENTERAL NUTRITION AND OCTREOTIDE. A MODEL OF CALCIUM PALMITATE GALLSTONES

Gallbladder stasis and gallstone formation are well-known complications of both fasting-associated total parenteral nutrition (TPN) and long-term treatment with octreotide. Additive noxious effects to hepatobiliary function may develop when both therapies are given together as treatment of enteric fistulae. The aim of this study was to assess the risk of gallstone formation during treatment with TPN and octreotide separately and in combination. We studied four groups of New Zealand rabbits (n = 32) during a 2-week intervention period: 14 chow-fed controls; 6 fasted and TPN-fed; 6 chow-fed and administered octreotide, and 6 fasted and treated with both TPN and octreotide. After treatment, the bile duct was cannulated and the gallbladder and liver tissue were obtained for histological analysis. Hepatic and gallbladder bile were retrieved for microscopic examination and measurement of biliary lipids, bilirubin, calcium, total protein, and cholesterol nucleation time. The chemical composition of gallstones was also analyzed. The results of the study suggest that simultaneous administration of these two therapies in rabbits has additive effects on gallbladder stasis and bile lithogenicity. The administration of both treatments can play an important role in the formation of calcium palmitate gallstones in these animals.

(*Gastroenterol Hepatol* 2001; 24: 321-326)

Estudio realizado gracias a la ayuda a la investigación del FIS 93/708.

Correspondencia: Dr. E.M. Targarona.
Servicio de Cirugía General.
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.
Avda. Pare Claret, 167. 08025 Barcelona.
Correo electrónico: 13882ets@comb.es

Recibido el 12-12-2000; aceptado para su publicación el 17-4-2001.

INTRODUCCIÓN

Uno de los avances importantes en las últimas décadas ha sido el desarrollo de las técnicas de nutrición artificial, que permiten mantener un balance energético positivo en situaciones clínicas en las que no es posible la alimenta-

ción oral. No obstante, la administración prolongada de la nutrición parenteral total (NPT) puede inducir alteraciones de origen hepatobiliar¹⁻⁴ entre las que destacan la esteatosis, la colestasis⁵, la formación de barro biliar^{6,7} y la litiasis vesicular⁸⁻¹¹.

Por otra parte, en los últimos años se han desarrollado fármacos con una importante actividad inhibitoria sobre la motilidad y la secreción gastrointestinal, como la somatostatina nativa o su análogo sintético (octreótida o SMS 201-995). Su espectro de indicaciones abarca desde el tratamiento de la acromegalia hasta el de las fístulas de origen digestivo¹²⁻¹⁵, la profilaxis en cirugía pancreática¹⁶, el síndrome de intestino corto¹⁷, el síndrome de *dumping*^{18,19} o la diarrea asociada al sida²⁰. Sin embargo, se ha observado que la octreótida (OCT) induce la aparición de colelitiasis cuando se administra de forma prolongada en pacientes acromegálicos²¹⁻²³. Así mismo, en diversos estudios experimentales se ha comprobado el efecto litogénico de este fármaco^{24,25}. Una de las indicaciones de interés de la OCT en cirugía digestiva es el tratamiento de las fístulas enterocutáneas, en las que debe administrarse de forma asociada a un soporte nutricional que permita mantener al paciente en reposo digestivo¹²⁻¹⁶. El hecho de que ambos tratamientos deban mantenerse durante períodos prolongados y sean potencialmente litogénicos puede potenciar el desarrollo de complicaciones hepatobiliares. Sin embargo, no se conoce con exactitud la posible interrelación que puede existir entre ambos tratamientos en esta localización. Dada la dificultad para valorar el efecto de la administración de ambos fármacos en estos pacientes, generalmente en estado crítico y que por ello reciben otros tratamientos, se ha planteado este estudio mediante un modelo experimental animal. A pesar de que no existe un modelo animal ideal semejante al humano para el estudio de las alteraciones hepatobiliares debido a diferencias en la composición biliar, se ha escogido el conejo ya que existen trabajos que avalan el modelo, tanto en alteraciones hepatobiliares inducidas por la nutrición parenteral como en estudios experimentales de colecistitis^{3,4}.

MATERIAL Y MÉTODO

Diseño experimental

Se utilizaron 44 conejos machos (New Zealand), con un peso comprendido entre 2 y 3 kg. Los animales fueron mantenidos en jaulas metabólicas (Prolabor, Barcelona) como mínimo una semana antes de practicar cualquier tipo de intervención. Se establecieron 4 grupos de estudio. En el grupo control (n = 14) se administró una dieta oral estándar no litogénica *ad libitum* (BK universal, Sant Vicenç dels Horts, Barcelona) con acceso libre al agua. En el grupo NPT (n = 6) se administró nutrición parenteral total (Servicio de Farmacia, Hospital Clinic, Barcelona) tras colocar un catéter central en la vena yugular, a través de una bomba de perfusión continua (Instech Model 820 System pumps, Leticia, Barcelona) a un ritmo de 190 ml/kg/día (kcal/día totales: 340). El grupo OCT (n = 6) recibió octreótida (Sandostatin® 1 µg/kg) por vía subcutánea cada 8 h, y una dieta oral estándar no litogénica. Al grupo NPT-OCT (n = 6) se administró de forma conjunta nutrición parenteral y octreótida subcutánea cada 8 h (1 µg/kg). Los animales fueron operados a los 14 días, tras ser anestesiados con clorpromacina (25 mg/kg) y ketamina (50 mg/kg), realizándose una laparotomía, obtención de bilis vesicular y bilis hepática, colecistectomía y una biopsia hepática en cuña.

Obtención de muestras

La bilis vesicular fue recogida por punción directa de la pared vesicular previa ligadura del conducto cístico y se registró el volumen total de bilis obtenida. A continuación se canuló la vía biliar común hasta la obtención de 2-3 ml de bilis hepática. La bilis fue almacenada en un tubo estéril, en condiciones anaerobias, protegida de la exposición a la luz y congelada a -70 °C. Se utilizó 1 ml de bilis vesicular en fresco, por ultrafiltración, para el estudio del tiempo de nucleación, mediante microscopio de luz polarizada (presencia de cristales).

La vesícula biliar fue abierta para identificar la posible existencia de barro biliar o litiasis. Posteriormente se obtuvo una muestra de sangre (10 ml) por punción de la vena cava suprahepática, que fue centrifugada a 4.500 rpm durante 10 min y se congeló el plasma a -70 °C.

Determinaciones en bilis y plasma

Los parámetros determinados en la bilis hepática y vesicular fueron: fosfolípidos, colesterol, sales biliares, calcio total, bilirrubina total y proteínas totales. La determinación de fosfolípidos fue realizada por cromatografía de columna, según el método de Bartlett²⁶. El colesterol fue medido por un método enzimático basado en la colesterol oxidasa y la peroxidasa²⁷. Los ácidos biliares fueron analizados por métodos enzimáticos²⁸. El calcio total fue medido por espectrofotometría y la bilirrubina total por cromatografía líquida²⁹. La concentración total de proteínas fue determinada por espectrofotometría mediante el método de Lowry³⁰. La composición química de los cálculos fue realizada por espectroscopia por infrarrojos (FT-IR, Madison, Wisconsin, EE.UU.)³¹. El tejido hepático y la vesícula biliar fueron estudiadas por microscopia óptica tras su tinción con hematoxilina-eosina. Las determinaciones bioquímicas en plasma (colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad, proteínas totales y calcio), así como los valores de función hepática (bilirrubina total, transaminasa glutámico oxalacética, transaminasa glutámico pirúvica, gamma glutamil transferasa y fosfatasa alcalina) fueron determinados con un autoanalizador (DAX.72, Teknicon, Bromma, Suecia).

Determinación del tiempo de nucleación

La bilis vesicular (1 ml) y la hepática (1 ml) fueron centrifugadas a 4.000 g durante 10 min. El sedimento obtenido se examinó a 37 °C mediante el microscopio de luz polarizada para la detección de sólidos biliares (monohidrato de colesterol y cristales de bilirrubinato cálcico). Con el objeto de determinar el tiempo de nucleación de la bilis vesicular y la hepática se filtró el sobrenadante producto de la centrifugación a través de un filtro Millipore Millex-HA (tamaño del poro: 0,22 µm) y se examinó una gota en el microscopio de luz polarizada. La bilis ultrafiltrada fue protegida de la luz y mantenida en incubación a 37 °C. Una gota fue observada en el microscopio cada 24 h durante 21 días para evaluar la aparición de cristales de colesterol³¹.

Análisis estadístico

Los resultados se han expresado como media ± error estándar. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el test de la t de Student para datos no apareados (bilateral). Se consideró que una diferencia alcanzaba significación estadística cuando la p resultante era inferior a 0,05.

RESULTADOS

Todos los animales incluidos en este trabajo presentaron un aspecto aparentemente sano durante los 14 días del período experimental. Los animales de los grupos NPT y NPT-OCT fueron pesados al inicio y al final del estudio (2,50 ± 0,08 kg frente a 2,46 ± 0,007 kg y 2,62 ± 0,1 kg frente a 2,55 ± 0,06 kg) sin que se apreciaran pérdidas de peso estadísticamente significativas. Sin embargo, los animales que recibieron alimentación oral (grupos control y OCT) incrementaron su peso un 17 y un 16%, respectivamente.

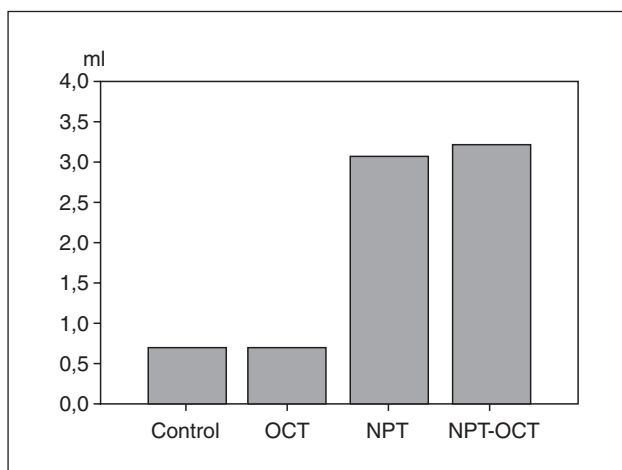


Fig. 1. Volumen vesicular. OCT: octreótida; NPT: nutrición parenteral total.

TABLA I. Cambios en la composición de la bilis hepática

| | Control | NPT | OCT | NPT-OCT |
|---------------------------|-------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|
| Fosfolípidos (mmol/l) | 0,9 ± 0,1 | 7,04 ± 1,2* | 6,5 ± 1,0 ^a | 8,7 ± 1,2 ^a |
| Colesterol (mmol/l) | 0,04 ± 0,01 | 0,09 ± 0,04 | 0,03 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 |
| Ácidos biliares, (mmol/l) | 1,4 ± 0,3 | 1,0 ± 0,4 | 1,37 ± 0,2 | 1,0 ± 0,4 |
| Bilirrubina total (mg/ml) | 1,2 ± 0,2 | 3,3 ± 0,17 ^{a,c} | 0,5 ± 0,0 | 2,8 ± 0,4 ^{a,c} |
| Proteínas total (mg/ml) | 1,3 ± 0,19 | 1,74 ± 0,5 | 1,23 ± 0,1 | 2,4 ± 0,6 ^{a,c} |
| Calcio total (mg/ml)** | 4,8 ± 0,4 | 9,4 ± 0,9* | 4,1 ± 0,6* | 5,7 ± 0,5 ^b |

Los valores se expresan como media ± desviación estándar.

NPT: nutrición parenteral total; OCT: octreótida.

^ap < 0,05 frente a grupo control. ^bp < 0,05 frente a grupo NPT. ^cp < 0,05 frente a grupo OCT.

*p < 0,001. ** Grupo control, n = 8.

No se apreciaron diferencias significativas en el volumen vesicular entre los grupos control (0,71 ± 0,08 ml) y OCT (0,70 ± 0,04 ml). No obstante, sí hubo diferencias (p < 0,001) entre los grupos NPT (3,08 ± 0,48 ml) y NPT-OCT (3,25 ± 0,46 ml) en comparación con los grupos control y OCT (fig. 1).

Alteraciones en la composición de la bilis hepática

Las alteraciones en la composición de la bilis hepática se resumen en la tabla I. En comparación con el grupo control, los conejos que recibieron sólo NPT presentaron un aumento significativo en la concentración de fosfolípidos, bilirrubina total y calcio, los que recibieron OCT de forma única evidenciaron sólo un incremento en las concentraciones de fosfolípidos y en los animales que recibieron ambos, NPT-OCT, se observó un aumento de fosfolípidos, bilirrubina total y proteínas totales.

Alteraciones en la composición de la bilis vesicular

Los cambios en la composición de la bilis vesicular se exponen en la tabla II. En comparación con el grupo control,

TABLA II. Cambios en la composición de la bilis vesicular

| | Control | NPT | OCT | NPT-OCT |
|---------------------------|-------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Fosfolípidos (mmol/l) | 3,3 ± 0,5 | 12,9 ± 1,2 ^a | 36,3 ± 3,8 ^{a,b} | 36,4 ± 4,2 ^{a,b} |
| Colesterol (mmol/l) | 0,6 ± 0,1 | 1,7 ± 0,1* | 0,6 ± 0,10 ^b | 2,6 ± 0,5 ^{a,c} |
| Ácidos biliares (mmol/l) | 11,5 ± 2,5 | 26,5 ± 7,1 | 57,0 ± 6,1 ^{a,b} | 15,1 ± 2,2* |
| Bilirrubina total (mg/ml) | 10,2 ± 2,3 | 23,7 ± 1,6 ^a | 8,6 ± 0,7 ^b | 29,9 ± 3,9 ^{a,c} |
| Proteínas totales (mg/ml) | 10,4 ± 1,7 | 19,6 ± 2,6 ^a | 8,2 ± 0,4 ^b | 22,3 ± 7,0 ^{a,c} |
| Calcio total (mg/ml)** | 44,6 ± 12,4 | 185,9 ± 20,2* | 79,3 ± 7,0 ^{a,b} | 91,4 ± 17,8 ^{a,b} |

Los valores se expresan como media ± desviación estándar.

NPT: nutrición parenteral total; OCT: octreótida.

^ap < 0,05 frente a grupo control. ^bp < 0,05 frente a grupo NPT.

^cp < 0,05 frente a grupo OCT.

*p < 0,001. ** Grupo control, n = 8.

TABLA III. Índice bilis vesicular/hepática

| | Control | NPT | OCT | NPT-OCT |
|---------------------------|------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Fosfolípidos (mmol/l) | 3,6 ± 0,7 | 2,4 ± 0,2 | 5,8 ± 0,8 ^b | 4,1 ± 0,6 ^b |
| Colesterol (mmol/l) | 18 ± 6,0 | 38 ± 12,9 | 32,3 ± 17,8 | 71,6 ± 19,3 ^a |
| Ácidos biliares (mmol/l) | 22 ± 5,7 | 39 ± 8,7 | 41,5 ± 5,4 ^a | 24,2 ± 5,8 |
| Bilirrubina total (mg/ml) | 13,6 ± 3,7 | 7,4 ± 0,4 | 17,6 ± 1,7 ^b | 11,5 ± 1,8 ^c |
| Proteínas totales (mg/ml) | 9,6 ± 1,0 | 14,7 ± 3,4 | 6,6 ± 0,4 | 10,5 ± 2,8 |
| Calcio total (mg/ml)** | 8,2 ± 0,8 | 19,5 ± 2,8 ^a | 21,3 ± 2,7 ^a | 15,6 ± 2,1 |

Los valores se expresan como media ± desviación estándar.

NPT: nutrición parenteral total; OCT: octreótida.

^ap < 0,05 frente a grupo control. ^bp < 0,05 frente a grupo NPT.

^cp < 0,05 frente a grupo OCT.

*Grupo control, n = 8.

control, los animales que recibieron sólo NPT presentaron un incremento en las concentraciones de todos los componentes analizados en la bilis, mientras que en los que sólo recibieron OCT se observaron aumentos significativos de los fosfolípidos, los ácidos biliares y el calcio. Por otra parte, al administrar ambos tratamientos, NPT-OCT, se obtuvo un incremento en las concentraciones de fosfolípidos, colesterol, bilirrubina total, proteínas totales y calcio.

Índice bilis vesicular/hepática

Los resultados se exponen en la tabla III. En el grupo NPT, el índice del calcio fue alto (p = 0,003) respecto al grupo control. Los índices de las sales biliares y el calcio también se encontraron elevados de forma significativa en el grupo OCT respecto al control (p < 0,03 y p < 0,001, respectivamente). Los índices del colesterol y del calcio estaban incrementados en el grupo NPT-OCT (p < 0,02 y p < 0,008).

Sólidos biliares

El estudio microscópico de la bilis fresca hepática y vesicular no detectó la existencia de materiales sólidos en los animales de los 4 grupos estudiados, ni en la bilis basal ni tras incubación durante 21 días. Sólo se observaron en el microscopio de luz polarizada «cruces de Malta» (vesículas) de forma ocasional en la bilis vesicular basal del grupo NPT-OCT. Uno de los conejos que recibió NPT-OCT desarrolló 5 cálculos de color negro, de consistencia dura y aspecto irregular (1,5-2,0 mm de diámetro); el análisis de estos cálculos por espectrofotometría por infrarrojos puso de manifiesto que estaban compuestos casi exclusivamente por sales de ácidos grasos, palmitato cálcico.

Análisis bioquímico en plasma

Se observó un aumento de las concentraciones en plasma de las fosfatasa alcalinas en el grupo OCT respecto a los valores obtenidos en el grupo control. Las concentraciones de colesterol aumentaron en los animales que recibieron NPT (sola o asociada a OCT), mientras que sólo hubo un incremento en los triglicéridos en el grupo NPT y de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en el grupo OCT. No se apreciaron diferencias entre los grupos respecto a las concentraciones de proteínas totales, albúmina y calcio.

Estudio histológico

El estudio histológico del hígado puso de manifiesto alteraciones en el parénquima hepático en el 50% de los animales del grupo NPT-OCT (esteatosis y presencia de gránulos intracitoplasmáticos con pigmento compatible con colestasis intracelular). Sólo se observó esteatosis en un animal del grupo NPT, en otro del grupo OCT y en ninguno de los controles. Por otra parte, las vesículas biliares de todos los animales de los grupos NPT y NPT-OCT presentaron modificaciones histológicas en forma de edema de la lámina propia. En un animal del grupo NPT se observaron signos histológicos compatibles con colecistitis aguda alitiásica. También se detectaron signos de colecistitis aguda en el animal del grupo NPT-OCT que presentaba cálculos en su interior.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio indican que la administración de NPT, OCT, o ambos a conejos durante un período de 14 días induce a alteraciones hepatobiliares significativas, como los cambios en la composición biliar potencialmente litogénicos y alteraciones inflamatorias en la pared vesicular. Puede haber varias causas que justifiquen estos cambios. Es bien conocido que el ayuno produce una hipomotilidad vesicular, estasis biliar y, en consecuencia, un aumento del volumen vesicular, tanto en humanos

como en animales tratados con NPT¹⁻⁶. En este estudio se ha demostrado un marcado aumento en el volumen y en la concentración de todos los componentes de la bilis vesicular en los animales tratados con NPT. La estasis biliar incrementa el tiempo de exposición de la bilis a la mucosa vesicular, facilitando la absorción de agua y electrolitos y aumentando la concentración de la bilis, factor éste bien conocido que acelera la nucleación de cristales de colesterol en humanos^{5,6}. Este aumento de la concentración de los componentes de la bilis (calcio, bilirrubina y principalmente ácido desoxicólico) también ha sido observado en otros estudios con animales tratados con NPT^{3,28}. A pesar de que en este trabajo no hemos detectado precipitados en la bilis vesicular, otros han demostrado cálculos de bilirrubinato cálcico en modelos animales, como en el perro de las praderas, cuya composición biliar es más propensa a cambios litogénicos²⁸, y cálculos de colesterol^{5,6}. El aumento en las concentraciones de fosfolípidos, bilirrubina y calcio en la bilis hepática observados en los animales tratados con NPT sugiere que los cambios en las concentraciones de estos solutos en la bilis vesicular pueden ser debidos en parte a alteraciones en la secreción biliar.

De forma similar al ayuno asociado a la administración de NPT, el tratamiento prolongado con OCT en humanos se ha asociado a estasis vesicular, hipomotilidad, aumento en la concentración de los solutos en la bilis vesicular y la formación de litiasis^{19,29,30}. La estasis vesicular ha sido objetivada por técnicas isotópicas en perros de las praderas tratados con OCT, a pesar de que no se detectaron diferencias en el volumen vesicular respecto a los animales control¹⁹. En nuestro estudio, el volumen de bilis vesicular entre los grupos OCT y control también fue similar, pero la concentración de los solutos en la bilis vesicular fue mayor, como queda reflejado al determinar los índices entre las concentraciones en bilis vesicular/hepática (tabla III). Por otra parte, aumentos en las concentraciones de fosfolípidos, ácidos biliares y calcio total en la bilis vesicular similares a los obtenidos en este grupo han sido observados en el perro de las praderas tras la administración de somatostatina^{19,20}.

El objetivo principal de este estudio ha sido investigar las alteraciones hepatobiliares inducidas por la administración simultánea de NPT y OCT, ya que esta asociación podría tener efectos aditivos y, por tanto, promover la rápida formación de barro biliar o litiasis vesicular. Ambos fármacos se administran de forma conjunta en pacientes críticos con fístulas intestinales, pancreáticas, etc., pero no se conocen las posibles consecuencias hepatobiliares ni en modelos animales ni en humanos. El aumento en el volumen de bilis vesicular y de las concentraciones de los diferentes solutos que se observó en los conejos tratados con NPT-OCT fueron predecibles, dados los resultados obtenidos en los grupos que recibieron los tratamientos por separado.

Mientras que en la bilis hepática las concentraciones en ácidos biliares y colesterol permanecieron inalteradas, las concentraciones de fosfolípidos se incrementaron 9 veces en el grupo NPT-OCT respecto al control; aumentos si-

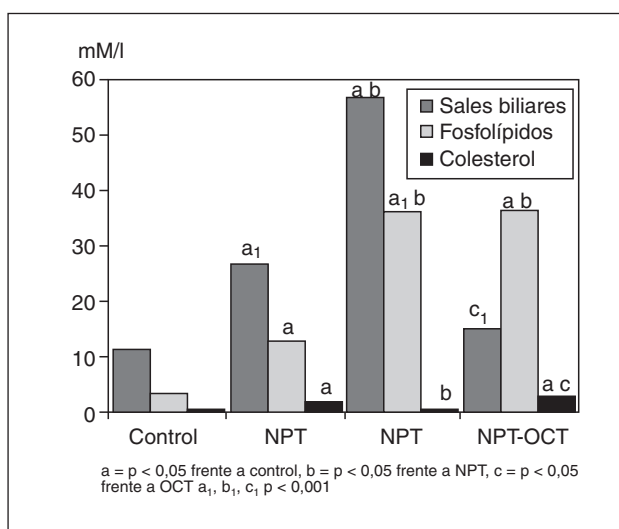


Fig. 2. Lípidos en la bilis vesicular. NPT: nutrición parenteral total; OCT: octreótida.

milares también ocurrieron en los animales a los que se administró OCT o NPT por separado (tabla I). En otros estudios animales también se han observado incrementos en las concentraciones de fosfolípidos en la bilis hepática, tanto en ratas alimentadas con NPT³¹ como en perros de las praderas tratados con OCT¹⁹. Por otra parte, aunque los animales que recibieron NPT o OCT por separado presentaron en la bilis vesicular valores elevados de fosfolípidos y ácidos biliares, los fosfolípidos fueron el mayor componente biliar al ser administrados ambos de forma conjunta, ya que las concentraciones de colesterol se incrementaron 4 veces, pero los ácidos biliares fueron semejantes a los controles (fig. 2). Existe una posible explicación a este cambio profundo y aparentemente discordante en la composición lipídica de la bilis hepática y vesicular. El conejo es un animal coprófago, por lo que su tracto digestivo está altamente contaminado con bacterias anaerobias, razón por la cual el ácido biliar predominante en el conejo es el glucodesoxicólico³². Bajo condiciones de disminución de la motilidad intestinal y vesicular con estasis biliar asociada, como es la inducida por la NPT y la OCT administradas de forma aislada o conjunta, las bacterias intestinales probablemente puedan acceder a la vía biliar desde el duodeno induciendo a la desconjugación de los ácidos biliares. Como anión, el ácido desoxicólico libre puede ser absorbido directamente por el epitelio biliar y ser secretado de nuevo por los hepatocitos a la bilis en un proceso de *shunt* colehepático³³. Este proceso arrastraría más fosfolípido (y colesterol) fuera del hepatocito hacia la bilis hepática y, dado que el colesterol puede ser absorbido en vesículas y micelas por la mucosa vesicular³⁴, el índice fosfolípido-colesterol aumentaría. Lo mismo ocurriría con el índice fosfolípido-ácidos biliares. Estos cambios serían más evidentes con la estasis y un mayor *shunt* colehepático³⁵, como se observó al administrar de forma conjunta la NPT y OCT. Desgraciada-

mente, dado el pequeño volumen de bilis disponible no se pudo realizar un estudio microbiológico o de los diferentes tipos de ácidos biliares para confirmar dicha hipótesis. Otros factores que podrían influir en la litogenicidad de estas bilis son que el aumento en la concentración de fosfolípidos puede disminuir la solubilidad de la bilirrubina no conjugada³⁶. Se ha observado que este hecho desempeña un papel importante en la formación de cálculos pigmentarios inducida por hidratos de carbono³⁷. Un descenso relativo de ácidos biliares respecto a los otros componentes, como el observado en el grupo NPT-OCT, produce la precipitación de pigmento biliar en la rata³⁸. Otro cambio litogénico potencial en este modelo es el aumento del calcio biliar, ya que puede promover la fusión de vesículas de lecitina-colesterol³⁹, el crecimiento de cristales de colesterol⁴⁰ y la activación de la fosfolipasa A2 e hipersecreción de mucus³⁵. Por otra parte, el aumento en la concentración de proteínas totales observado en la bilis hepática y vesicular en el grupo NPT-OCT podría actuar como un factor pronucleante⁴¹.

El examen microscópico de la bilis en los animales del grupo NPT-OCT puso de manifiesto «cruces de malta» (vesículas inestables que se fusionan en cristales líquidos lamelares), pero no se observaron cristales líquidos. Este hecho era esperable, dado el índice inusualmente elevado de fosfolípidos-sales biliares⁴². Los cálculos que se obtuvieron en uno de los animales de este grupo no fueron de colesterol, sino que el estudio de espectrofotometría por infrarrojos demostró una composición principalmente de ácidos grasos, palmitato cálcico y sales de carboxilato de amonio. Presumiblemente, el palmitato pudo ser originado de la hidrólisis de las lecitinas biliares, principal fosfolípido, causadas por la acción de la fosfolipasa A1 bacteriana sobre la unión sn-1 de la fosfatidilcolina³⁵. Tanto en roedores como en humanos el ácido palmítico (C16: 0) es el principal ácido graso en las lecitinas biliares⁴³. Estos ácidos grasos precipitan con la presencia de calcio en bilis, produciendo sales cálcicas insolubles. Este mecanismo ha sido relacionado con la formación de cálculos pigmentarios marrones en bilis infectadas, en humanos^{35,44}. Hemos de remarcar que la vesícula del animal que desarrolló litiasis y la de otro que recibió NPT presentaron evidencias histológicas de colecistitis aguda. Una de las posibles explicaciones a este fenómeno podría estar en que el aumento en la bilis vesicular de lisolecitina (fosfolípidos) podría contribuir a la irritación química de la vesícula biliar⁴⁵.

En resumen, existen diversas hipótesis que puedan explicar la fisiopatología de estos cambios en la bilis y la formación de cálculos inducidos tras la administración simultánea de NPT y OCT en el conejo. Por otra parte, consideramos que este modelo animal podría ser un buen modelo experimental de la formación de cálculos de palmitato cálcico y de colecistitis aguda, como consecuencia de la estasis vesicular y los cambios en las concentraciones de los diferentes solutos biliares. A pesar de que no existe un modelo animal ideal semejante al humano para el estudio de las alteraciones hepatobiliares, debido a las características de la composición biliar, las alteraciones

observadas en este trabajo sugieren que debería realizarse un estudio riguroso dirigido a determinar la trascendencia de la asociación de ambos fármacos en humanos.

BIBLIOGRAFÍA

- Fein BI, Holt PR. Hepatobiliary complications of total parenteral nutrition. *J Clin Gastroenterol* 1994; 18: 62-66.
- Quigley EMM, Marsh MN, Shaffer JL, Markin RS. Hepatobiliary complications of total parenteral nutrition. *Gastroenterology* 1993; 104: 286-301.
- Gleghorn EE, Merritt RJ, Henton DL, Neusterin HM, Landing B, Sinatra FR. A subacute rabbit model for hepatobiliary dysfunction during total parenteral nutrition. *J Ped Gastroenterol Nutr* 1989; 9: 247-255.
- Das JB, Poulos ND, Ansari GG. Biliary lipid composition and bile acid profiles during and after enteral fast of total parenteral nutrition in the rabbit. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; 22: 85-91.
- Messing B, Bories C, Kunstlinger F, Bernier JJ. Does total parenteral nutrition induce gallbladder sludge formation and lithiasis? *Gastroenterology* 1983; 84: 1012-1019.
- Roslyn JJ, Pitt HA, Mann LL, Ament ME, Den Besten L. Gallbladder disease in patients on long term parenteral nutrition. *Gastroenterology* 1983; 84: 148-154.
- Nubiola P, Badía JM, Martínez-Rodenas F, Gil MJ, Segura M, Sancho J et al. Treatment of 27 post-operative enterocutaneous fistulas with the long half-life somatostatin analogue SMS 201-995. *Ann Surg* 1989; 210: 56-58.
- Nubiola-Calonge P, Badía JM, Sancho J, Gil MJ, Segura M, Sitges-Serra A. Blind evaluation of the effects of octreotide (SMS 201-995), a somatostatin analogue, on small bowel fistula output. *Lancet* 1987; 11: 674-676.
- Sancho JJ, Di Constanzo J, Nubiola P, Larrad A, Beguiristain A, Roqueta F et al. Randomized double-blind placebo-controlled trial of early octreotide in patients with postoperative enterocutaneous fistula. *Br J Surg* 1995; 82: 638-641.
- Martineau P, Shwed JA, Denis R. Is octreotide a new hope for enterocutaneous and external pancreatic fistulas closure? *Am J Surg* 1996; 172: 386-395.
- Friess H, Kempl I, Hermanek P. The role of somatostatin and octreotide in pancreatic disease. *Digestion* 1993; 55 (Supl 1): 37-44.
- Williams ST, Cooper JC, Axon AT, King RF, Barker M. Use of a long acting somatostatin analogue in controlling life threatening ileostomy diarrhoea. *BMJ* 1984; 289: 1027-1028.
- Long RJ, Adrian TE, Bloom SR. Somatostatin and the dumping syndrome. *BMJ* 1985; 290: 445-449.
- Reasbeck PG, Van Rij AM. The effect of somatostatin on the dumping after gastric surgery. A preliminary report. *Surgery* 1986; 99: 442-468.
- Cello JP, Grendell J, Basuk P. Controlled clinical trial of octreotide for refractory AIDS-associated diarrhoea. *Gastroenterology* 1990; 98 (Supl 1): A163.
- Buscail LE, Tauber JP, Escourrou J. Gallstone formation and occurrence of cholesterol monohydrate crystals in gallbladder bile of patients with long-term sandostatin treatment. *Gastroenterology* 1989; 96: A580.
- Dowling RH, Hussaini SH, Murphy GM, Wass JAH. Gallstones during octreotide therapy. *Digestion* 1993; 54 (Supl 1): 107-120.
- Bigg-Wither GW, Ho KK, Grunstein R, Sullivan CE, Doust BD. Effects of long term octreotide on gallstone formation and gallbladder function. *BMJ* 1992; 304: 1611-1612.
- Ahrendt SA, McGuire GE, Pitt HA, Lillemoie KD. Why somatostatin cause gallstones? *Am J Surg* 1991; 161: 177-182.
- Moser AJ, Giurgiu D, Morgenstern K, Abedin ZR, Roslyn JJ, Abedin MZ. Octreotide stimulates Ca^{++} secretion by the gallbladder: a risk factor for gallstones. *Surgery* 1999; 125: 509-513.
- Moser AJ, Abedin MZ, Giurgiu DIN, Roslyn JJ. Octreotide promotes gallbladder absorption in prairie dogs: A potential cause of gallstones. *Gastroenterology*, 1995; 108: 1547-1555.
- Bartlett GR. Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 1959; 234: 466-468.
- Fromm H, Amin P, Klein H, Kupke I. Use of a simple enzymatic assay of cholesterol analysis in human bile. *J Lipid Res* 1980; 21: 259-261.
- Talalay P. Enzymatic analysis of steroid hormones. *Methods Biol Chem* 1960; 8: 115-143.
- Brett EM, Hicks JM, Powers DM, Rand RN. Delta bilirubin in serum of pediatric patients: correlation with age and disease. *Clin Chem* 1984; 30: 1561-1563.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
- Ros E, Navarro S, Fernández I, Reixach M, Ribó JM, Rodés J. Utility of biliary microscopy for the prediction of the chemical composition of gallstones and the outcome of dissolution therapy with ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology* 1986; 91: 703-712.
- Muller E, Grace PA, Pitt HA. The effect of parenteral nutrition on biliary calcium and bilirubin. *J Surg Res* 1986; 40: 55-62.
- Hussaini SH, Pereira SP, Veysey MJ, Kennedy C, Jenkins P, Murphy GM et al. Roles of gallbladder emptying and intestinal transit in the pathogenesis of octreotide induced gallbladder stones. *Gut* 1996; 38: 775-783.
- Van Liessum PA, Hopman WPM, Pieters GF, Jansen JB, Smals AG, Rosenbusch G et al. Postprandial gallbladder motility during long term treatment with the long-acting somatostatin analogue SMS 201-995 in acromegaly. *Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 557-562.
- Gimmon Z, Kelley RE, Simko V, Fischer JE. Total parenteral nutrition solution increases bile lithogenicity in the rat. *J Surg Res* 1982; 32: 526-563.
- Xu G, Salen G, Batta AK, Shefer S, Nguyen LB, Niemann W et al. Glycocholic acid and glycodeoxycholic acid but not glycursocholic acid inhibit bile acid synthesis in the rabbit. *Gastroenterology* 1992; 102: 1717-17.
- Hofmann AF. The colehepatic circulation of unconjugated bile acids: an update. En: Paumgartner G, Stiehl A, Gerok W, editores. *Bile acids and the hepatobiliary system*. Boston: Kluwer, 1993; 143-160.
- Ross PE, Bott AN, Gallacher C. Cholesterol absorption in the gallbladder. *J Clin Pathol* 1990; 43: 572-575.
- Carey MC, Calahane MJ. Whither biliary sludge. *Gastroenterology* 1988; 95: 508-523.
- Ostrow JD. Unconjugated bilirubin and cholesterol formation. *Hepatology* 1990; 12: S219-S226.
- Conter RL, Roslyn JJ, Pitt HA. Carbohydrate diet-induced calcium bilirubinate sludge and pigment gallstones in the prairie dog. *J Surg Res* 1986; 40: 580-587.
- Angelico M, Candeloro de Sanctis S, Gandin C, Alvaro D. Spontaneous formation of pigmentary precipitates in bile salt-depleted rat bile and its prevention by micelle-forming bile salts. *Gastroenterology* 1990; 98: 444-453.
- Holzbach RT. Recent progress in understanding cholesterol crystal nucleation as a precursor to human gallstone formation. *Hepatology* 1986; 6: 1403-1406.
- Toor EW, Cussler EL, Evans DF. Cholesterol microcrystal growth in bile. *Clin Res* 1977; 25: 320.
- Gallinger S, Harvey RC, Petrunka CN, Ilson RG, Strasberg SM. Biliary proteins and the nucleation defect in cholesterol cholelithiasis. *Gastroenterology* 1987; 92: 867-875.
- Donovan JM, Carey MC. Physical-chemical basis of gallstone formation. *Gastroenterol Clin North Am* 1991; 20: 47-66.
- Cabral DJ, Small DM. Physical chemistry of bile. En: Schultz SG, Forte JG, Rauner BB, editores. *Handbook of Physiology - The Gastrointestinal System III*. Section 6. Baltimore: American Physiological Society, 1989; 621-662.
- Cetta F. The role of bacteria in pigment gallstone disease. *Ann Surg* 1991; 213: 315-326.
- Myers S, Bartula L, Kalley-Taylor B. The role of prostaglandin I₂ and biliary lipids during evolving cholecystitis in the rabbit. *Gastroenterology* 1993; 104: 248-255.