

Efecto de la administración de colescistoquinina sobre la colestasis asociada a la nutrición parenteral total en el intestino corto experimental*

N. García-Urkia¹, A.B. Asensio¹, A. Cano¹, N. Samprón¹, J.M. García-Arenzana², P. Bachiller³, P. Aldazabal¹, I. Eizaguirre⁴

¹Unidad Experimental, ²Microbiología, ³Farmacia y ⁴Cirugía Pediátrica. Hospital Donostia. San Sebastián.

RESUMEN: Introducción. La nutrición parenteral total (NPT) no está libre de complicaciones. Una de las más serias es la colestasis, cuyo origen no es muy claro y puede deberse a la falta de estímulo enteral para la producción de colescistoquinina (CCQ). La CCQ es fundamental para la contracción de la vesícula biliar y como estimulante del flujo biliar intrahepático. Su falta puede contribuir a la colestasis.

Ante toda agresión hepática, las células de Kupffer responden y liberan citoquinas proinflamatorias, como la interleukina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que aumentan el daño hepático.

El objetivo de este estudio experimental ha sido observar el efecto que la administración exógena de CCQ pudiera tener sobre el daño hepático en el intestino corto experimental con y sin NPT, medido por los niveles séricos de IL-1 y TNF- α .

Material y métodos. Cincuenta y tres ratas Wistar fueron sometidas a una resección del 80% del intestino delgado y a una infusión continua de suero o NPT y se asignaron a los siguientes grupos:

- SHAM (N=14): infusión de suero fisiológico y acceso libre a comida y agua.
- NPT (N=15): NPT estándar.
- SHAM-CCQ (N=14): como el grupo SHAM y una administración diaria de CCQ.
- NPT-CCQ (N=10): como el NPT y una administración diaria de CCQ.

Al final del experimento, los animales fueron sacrificados y se obtuvieron muestra de sangre para determinar los valores IL-1 y TNF- α por ELISA.

Resultados. Los niveles de IL-1 y TNF- α fueron mayores en el grupo NPT (7,537 y 5,899 pg/mL, respectivamente) que en el grupo SHAM (6,509 y 4,989 pg/mL, respectivamente) ($p > 0,05$).

Los valores de TNF- α fueron mayores en el grupo SHAM (4,989 pg/mL) que en el grupo SHAM-CCQ (4,583 pg/mL), ($p < 0,001$).

Los niveles de IL-1 y TNF- α fueron mayores en el grupo NPT que en el grupo NPT-CCQ (6,709 y 4,794 pg/mL, respectivamente) ($p < 0,001$ para TNF- α).

Conclusiones.

1. En los animales con intestino corto bajo NPT o con nutrición enteral, se elevan los niveles séricos de las citoquinas proinflamatorias IL-1 y TNF- α .
2. La administración de CCQ, disminuye los niveles de IL-1 y TNF- α , pudiendo ser utilizada como una medida más para combatir la colestasis asociada a la NPT.

PALABRAS CLAVE: Colestasis; Nutrición Parenteral; Intestino Corto; Citoquinas.

EFFECT OF THE ADMINISTRATION OF CHOLECYSTOKININ ON THE COLESTASIS ASSOCIATED WITH TOTAL PARENTERAL NUTRITION IN EXPERIMENTAL SHORT BOWEL

ABSTRACT: Introduction. Total parenteral nutrition (TPN) is not free of complications. One of the most serious is cholestasis; the cause of this complication is unclear but it may be due to a lack of an enteral stimulus for cholecystokinin (CCK) production. CCK is essential for contraction of the gallbladder and also stimulates intrahepatic bile flow. Its absence may contribute to cholestasis.

After any hepatic aggression, the Kupffer cells respond and release pro-inflammatory cytokines, such as interleukin-1 (IL-1) and tumour necrosis factor alpha (TNF- α), which increase the hepatic damage.

The objective of this experimental study has been to observe the effect that the exogenous administration of CCK could have on hepatic damage in experimental short bowel with and without TPN, determined using the serum levels of IL-1 and TNF- α .

Material and methods. A resection of 80% of the small bowel was performed on 53 Wistar rats and a continuous infusion of saline or TPN was initiated. The rats were divided into the following groups:

- SHAM (N=14): normal saline infusion and free access to food and water.
- TPN (N=15): Standard TPN.
- SHAM-CCK (N=14): same as the SHAM group but with a daily dose of CCK.
- TPN-CCK (N=10): same as the TPN group but with a daily dose of CCK.

At the end of the experiment, the animals were sacrificed and blood samples were obtained to determine the IL-1 and TNF- α values by ELISA.

Results. The IL-1 and TNF- α levels were higher in the TPN group (7,537 and 5,899 pg/mL, respectively) than in the SHAM group (6,509 and 4,989 pg/mL, respectively) ($p > 0,05$).

The TNF- α values were higher in the SHAM group (4,989 pg/mL) than in the SHAM-CCK group (4,583 pg/mL) ($p < 0,001$).

The IL-1 and TNF- α levels were higher in the TPN group than in the TPN-CCK group (6,709 and 4,794 pg/mL, respectively) ($p < 0,001$ for TNF- α).

Conclusions.

1. There is a rise in the serum levels of the pro-inflammatory cytokines IL-1 and TNF- α in animals with short bowel on TPN or enteral nutrition.
2. The administration of CCK causes a fall in the IL-1 and TNF- α levels, and could be used such as a further measure to prevent TPN-associated cholestasis.

KEY WORDS: Colestasis; Parenteral nutrition; Short bowel; Citoquinas.

Correspondencia: Iñaki Eizaguirre. Plaza del Deporte, 8-3º A. 20009 San Sebastián.

Email: ignacio.eizaguirre@osakidetza.net

*Trabajo presentado al XIV Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Pediátrica, en Funchal (Madeira) en Mayo de 2005.

Recibido: Mayo 2005

Aceptado: Marzo 2006

INTRODUCCIÓN

La nutrición parenteral total (NPT) ha hecho posible la supervivencia de pacientes pediátricos con síndrome de intestino corto (SIC), sin embargo la utilización de este soporte nutricional conlleva la aparición de múltiples complicaciones⁽¹⁻⁴⁾. Una de las más importantes es la colestasis⁽⁵⁻⁶⁾, cuyo origen es poco claro y puede estar relacionado con diferentes factores como son la composición de la solución administrada, las infecciones recurrentes y la falta de estímulo enteral que afecta a la producción de colecistoquinina (CCQ). La CCQ es fundamental para la contracción de la vesícula biliar y como estimulante del flujo biliar intrahepático, por lo tanto una alteración de los niveles de CCQ puede contribuir en el desarrollo de la colestasis⁽⁷⁾.

Ante toda agresión hepática, las células de Kupffer responden y liberan citoquinas proinflamatorias, como la interleukina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que aumentan el daño hepático⁽⁸⁻⁹⁾.

El objetivo de este estudio experimental ha sido observar el efecto que la administración exógena de CCQ pudiera tener sobre el daño hepático en el intestino corto experimental con y sin NPT, medido por los niveles séricos de IL-1 y TNF- α .

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 53 ratas Wistar [(CRL: (WI)BR), Criffa, Barcelona] de entre 240-280 gr, criadas y mantenidas en nuestras instalaciones de acuerdo con la legislación vigente⁽¹⁰⁾. A todos los animales se les realizó una resección del 80% del intestino delgado y fueron asignadas a cuatro grupos constituidos en función de la infusión continua de suero ó NPT y la administración exógena de CCQ:

- SHAM (N=14): infusión de suero fisiológico (0,5 mL/hora), y acceso libre a comida y agua.
- NPT (N=15): NPT estándar. (300 mL/kg/24 h; 280 kcal/kg/24 h)
- SHAM-CCQ (N=14): como el grupo SHAM y una administración diaria de CCQ. (45 μ g/kg peso/día, vía s.c.)
- NPT-CCQ (N=10): como el NPT y una administración diaria de CCQ. (45 μ g/kg peso/día, vía s.c.)

Los animales estuvieron alojados en jaulas metabólicas individuales durante 10 días. Al final del experimento, los animales fueron anestesiados con un mezcla de Atropina 0,1 mgr/kg (Atropina® B.Braun Medical SA), Ketamina 60 mg/kg (Ketolar® Parke-Davis) y Diazepam 3 mgr/kg (Valium®, Roche) por vía i.m. y sacrificados en condiciones estériles mediante punción cardíaca.

Para realizar las determinaciones de las citoquinas proinflamatorias IL-1 y TNF- α se obtuvieron muestras de plasma por centrifugación (5.000 r.p.m. a 4°C durante 10 minutos), de muestras de sangre recogidas en tubos EDTA. Las muestras se almacenaron en criotubos a -20°C.

Las determinaciones de IL-1 y TNF- α se realizaron empleando inmunoensayo enzimático (Rat IL-1 beta/IL-1F2 Quantikine ELISA Kit y Rat TNF- α /TNFSF1A Quantikine ELISA Kit, R & D Systems). Se obtuvieron las concentraciones de las citoquinas en log pg/mL.

RESULTADOS

De acuerdo con los datos mostrados en la tabla I, los niveles de IL-1 y TNF- α fueron mayores en el grupo NPT (7,537 y 5,899 pg/ml, respectivamente) que en el grupo SHAM (6,509 y 4,989 pg/mL, respectivamente) ($p > 0,05$).

Los valores de TNF- α fueron mayores en el grupo SHAM (4,989 pg/mL) que en el grupo SHAM-CCQ (4,583 pg/mL), ($p < 0,001$).

Los niveles de IL-1 y TNF- α fueron mayores en el grupo NPT que en el grupo NPT-CCQ (6,709 y 4,794 pg/mL, respectivamente), ($p < 0,001$ para TNF- α).

DISCUSIÓN

La NPT está indicada en pacientes que, incapaces de seguir una terapia de nutrición enteral, muestran efectos adversos de la malnutrición como la pérdida de líquidos y electrolitos⁽¹¹⁾. Pero la utilización de NPT no está libre de complicaciones. Además de inducir a la atrofia intestinal como consecuencia de la falta de alimentación oral, lo que facilita la traslocación bacteriana⁽¹²⁾, provoca múltiples problemas como deficiencias nutricionales, septicemias relacionadas con el uso de catéteres, disfunciones hepáticas, insuficiencia renal progresiva y fallo intestinal⁽¹³⁻¹⁶⁾. Una de las complicaciones más comunes y conocidas entre las disfunciones hepáticas es la colestasis asociada a la NPT.

La colestasis es un problema definido como el estancamiento de la bilis tanto dentro de los hepatocitos como dentro de los colangiolos y el resto de la vía biliar intra y extrahepática. Los pacientes desarrollan evidencias de la presencia de colestasis de 2 a 3 semanas después de comenzar con la NPT. La colestasis puede progresar en cirrosis biliar y fallo hepático irreversible^(2,4,6).

La patogénesis de la colestasis es poco conocida⁽¹⁷⁾, pero se han observado múltiples factores asociados como los propios componentes de la solución administrada, el efecto tóxico de la solución de aminoácidos en los hepatocitos⁽¹⁶⁾, una prolongada duración de la NPT, episodios sépticos, etc.^(4,8,17) Hay ciertas situaciones, como el SIC, donde los cambios son más rápidos y severos, y existen factores asociados a los pacientes, como la prematuridad y el bajo peso al nacer⁽⁶⁾.

Las teorías sobre su origen son puramente especulativas, pero entre todas ellas, las dos hipótesis más investigadas como causas potenciales son^(7,18):

- 1) La toxicidad de la fórmula de NPT.
- 2) La falta de estimulación enteral durante la NPT y los cambios en la circulación enterohepática que provocaría la

Tabla I Niveles séricos de IL-1 y TNF- α . (pg/mL)

GRUPO	Número de animales	IL-1 X \pm SD	TNF- α X \pm SD
SHAM	14	6,509 \pm 0,072*	4,989 \pm 0,032*/**
NPT	15	7,537 \pm 0,238	5,899 \pm 0,187***
SHAM-CCQ	14	6,534 \pm 0,085	4,583 \pm 0,061
NPT-CCQ	10	6,709 \pm 0,038	4,794 \pm 0,081

* $p < 0,05$ vs. NPT; ** $p < 0,001$ vs. SHAM-CCQ; *** $p < 0,001$ vs. NPT-CCQ.

perdida de masa y funcionalidad intestinal, que implica una alteración en la producción de hormonas intestinales, grupo al que pertenece la CCQ.

Los tratamientos más efectivos se basan en la terapia discontinua de NPT y el aporte de nutrientes por vía enteral. Sin embargo, existe un conjunto de pacientes con severos fallos intestinales donde no es posible aplicar estos tratamientos, por lo tanto hay que evitar complicaciones tales como episodios sépticos, reducir agresiones quirúrgicas (factores relacionados con el paciente) con tratamientos tales como la descontaminación intestinal selectiva⁽⁶⁻⁸⁾.

Durante la NPT se ha observado una disminución de la concentración plasmática de CCQ, por lo tanto este efecto puede estar asociado al riesgo a desarrollar colestasis. La administración exógena de CCQ como agente profiláctico puede tener un efecto positivo⁽¹⁶⁾.

Otro de los factores implicados en el desarrollo de la colestasis es la liberación de citoquinas intrahepáticas (TNF- α , IL-1, 6 y 8) por parte de las células de Kupffer y otras células hepáticas inmunocompetentes, dando como resultado una alta concentración de citoquinas locales las cuales afectan directamente a la función de los hepatocitos⁽⁸⁾.

En nuestro trabajo hemos comprobado que un régimen de NPT aumenta los niveles séricos de las citoquinas proinflamatorias IL-1 y TNF- α , que se reducen cuando se administra de manera exógena CCQ.

CONCLUSIONES

1. En los animales con intestino corto bajo NPT o con nutrición enteral, se elevan los niveles séricos de las citoquinas proinflamatorias IL-1 y TNF- α .

2. La administración de CCQ, disminuye los niveles de IL-1 y TNF- α , pudiendo ser utilizada como una medida más para combatir la colestasis asociada a la NPT.

BIBLIOGRAFÍA

1. Goulet O, Ruemmele F, Lacaille F, Colomb V. Irreversible intestinal failure. *JPGN* 2004;**38**:250-269.
2. Forrest EH, Oien KA, Dickson S, Galloway D, Mills PR. Improvement in cholestasis associated with total parenteral nutrition after treatment with an antibody against tumour necrosis factor alpha. *Liver* 2002;**22**:317-20.
3. Colomb V, Jobert-Giraud A, Lacaille F, Goulet O, Fournet JC, Ricour C. Role of lipid emulsions in cholestasis associated with long-term parenteral nutrition in children. *JPEN* 2000;**24**:345-50.
4. Angelico M, Della Guardia P. Review article: hepatobiliary complications associated with total parenteral nutrition. *AP & T* 2000;**14**(Suppl 2):54-7.
5. Shulman RJ, Philip S. Parenteral nutrition in infants and children. *JPGN* 2003;**36**:587-607.
6. Morán Penco JM, Salas Martínez J, Maciá Botejada E. ¿Qué sucede en el hígado durante la alimentación artificial? *Nutr Hosp* 2001;**16**:145-51.
7. Moss RL, Amii LA. New approaches to understanding the etiology and treatment of total parenteral nutrition-associated cholestasis. *Semin Pediatr Surg* 1999;**8**:140-7.
8. Trauner M, Fickert P, Staurber RE. Inflammation-induced cholestasis. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;**14**:946-959.
9. Bengmark S. Modulation by enteral nutrition of the phase response and immune functions. *Nutr Hosp* 2003;**18**:1-5.
10. Diario Oficial de las Comunidades Europeas 1986, 18 de Diciembre- NL358/1 al NL358/28.
11. Scolpio J. A review of the trends in the use of Enteral and Parenteral Nutrition Support. *J Clin Gastroenterol* 2004;**38**:403-407.
12. Eizaguirre I, Aldazabal P, Barrena MJ, García Arenzana JM, Ariz C, Candelas S, Tovar JA. Effect of Growth Hormone, Epidermal Growth Factor and Insulin on Bacterial Translocation in Experimental Short Bowel Syndrome. *J Pediatr Surg* 2000;**35**:692-695.
13. Teitelbaum DH. Parenteral nutrition-associated cholestasis. *Semin Pediatr Surg* 2001;**10**:72-80.
14. Litchman SM. Bacterial translocation in humans. *JPGN* 2001;**33**:1-10.
15. Wesley AJ, Boyce ST, Babcock GF. The process of microbial translocation. *Ann Surg* 1990;**212**:496-512.
16. Sundaram A, Koutkia P, Apovian C. Nutritional Management of Short Bowel Syndrome in Adults. *J Clin Gastroenterol* 2002;**34**:207-220.
17. Burstyne M, Jensen GL. Abnormal liver functions as a result of total parenteral nutrition in a patient with short-bowel syndrome. *Nutrition* 2000;**16**:1090-2.
18. Amii LA, Moss RL. Nutritional support of the pediatric surgical patient. *Curr Opin Pediatr* 1999;**11**:237-40.