

INFLUENCIA DE LA HEPATECTOMIA PARCIAL SOBRE EL BALANCE DE NITROGENO Y DIGESTIBILIDAD DE LA GRASA

A. SANZ, M. MARTINEZ DE VICTORIA, S. ZAMORA y M. A. LOPEZ

INTRODUCCION

La enorme trascendencia funcional del hígado ha condicionado la publicación de numerosos estudios acerca de las consecuencias de su extirpación parcial (1), (2), (3), pero casi todos estos trabajos vienen referidos a alteraciones de tipo bioquímico y a cambios en la morfología micro y macroscópica del hígado, indicándonos que la regeneración hepática en la rata es muy rápida, pero sin embargo, no queda totalmente resuelto el problema desde el punto de vista funcional.

Por ello nos planteamos la posibilidad de estudiar la influencia de la hepatectomía parcial sobre algunos procesos fisiológicos posibles de cuantificar en nuestro Departamento, a saber: balance de nitrógeno y digestibilidad de la grasa y balance de nitrógeno controlado diariamente. Asimismo se han realizado controles histológicos hepáticos.

MATERIAL Y METODOS

Como animales de experimentación se han utilizado ratas adultas de ambos sexos, de la cepa Nestle y de pesos comprendidos entre 170 y 230 g

Para efectuar la hepatectomía se ha seguido el método original de HIGGINS y ANDERSON (4), con algunas modificaciones. Tras anestesia del animal con éter se efectúa laparotomía media de 4-5 cm de longitud, llegando hasta el cartilago xifoides. Se ligan y se extirpan el lóbulo lateral izquierdo (hepatectomía 1/3) o el lóbulo lateral izquierdo y el mediano (hepatectomía

2/3). A continuación se cierra la herida por planos según la técnica habitual.

Se han realizado los siguientes experimentos:

A.—Experimentos de balance de nitrógeno con dietas de un nivel proteico bajo (4 por ciento) y normal (18 por ciento), y digestibilidad de la grasa con un porcentaje graso en la dieta normal (4 por ciento).

B.—Experimentos de balance de nitrógeno controlado diariamente con los mismos niveles proteicos en la dieta.

Para llevar a cabo el primer tipo de experimentos, los animales se alojan en jaulas individuales de metabolismo, que permiten la recogida de orina y heces por separado, así como el control del alimento ingerido. Dichas jaulas se encuentran en una habitación termorregulada ($23 \pm 1^\circ\text{C}$).

Tanto cuando los animales han consumido la dieta al 4 por ciento de proteína, durante seis días, utilizada en primer lugar, como cuando lo han hecho con la del 18 por ciento consumida a continuación y durante diez días, hemos considerado dos períodos: uno inicial de tres días de duración para que los animales se adapten tanto a la dieta como a las jaulas y al medio; y otro posterior en el que se han realizado los controles y análisis necesarios en cada caso.

En los experimentos de balance de nitrógeno controlado diariamente el método a emplear es similar al anterior, pero sin previa adaptación a la dieta y los dispositivos de recogida de heces y orina están modificados con arreglo al método experimental descrito por THOMPSON (5). El hecho de que en este tipo de experimentos no hubiera período de adaptación, se debe al interés por nuestra parte de obtener resultados analíticos desde el primer día tras hepatectomía.

En todas las experiencias los animales comieron y bebieron "ad libitum".

En la dieta suministrada, en heces y orina, se han realizado los siguientes análisis:

HUMEDAD: En estufa a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta peso constante.

NITROGENO: Según el método de Kjeldahl, utilizando una mezcla de sulfato potásico, sulfato de selenio y cobre como catalizador. Se usa el factor 6,25 para la transformación de nitrógeno en proteína.

GRASA: Extracción con éter sulfúrico por el método de Soxhlet.

Para la observación microscópica de los cortes de hígado, previa inclusión en parafina, se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson.

En cuanto al tratamiento estadístico empleado, en todos los casos en que se han comparado medias de poblaciones se ha usado el test de la t de Student. Los valores medios se acompañan del error de la media.

RESULTADOS Y DISCUSION

Hemos confirmado lo ya indicado en bibliografía acerca de la extraordinaria velocidad de regeneración del hígado de la rata después de hepatectomía parcial (6), (7). En efecto, todo parece indicar que la regeneración se ha completado hacia el día quinto, y quizás exista un nuevo impulso de regeneración hacia el día dieciseisavo (Tabla I), lo que también ha sido descrito por otros investigadores (8).

Sobre el balance de nitrógeno

En un primer ensayo de balance de nitrógeno con una dieta al 4 por ciento de proteína, un mes después de la extirpación de $1/3$ de hígado, como es lógico no se aprecia ninguna variación respecto a los controles intactos, ni en el balance de nitrógeno que es en ambos casos ligeramente negativo, debido obviamente al bajo nivel proteico de la dieta, ni en la ingesta, la excreción urinaria, ni en la excreción fecal de nitrógeno (fig. 1).

En un ensayo análogo llevado a cabo tres días después del mismo tipo de extirpación y con el mismo nivel proteico en la dieta (fig. 1), se obtuvo un balance de nitrógeno menos negativo, pero siguen sin existir diferencias significativas respecto a los controles.

Estos resultados parecen indicar que la hepatectomía re-percuta favorablemente sobre la retención de nitrógeno; si esto es así una hepatectomía más amplia debería aumentar más aún dicha retención; en efecto, en ensayos realizados tres días después de la extirpación de $2/3$ del hígado (fig. 1) encontramos

TABLA I.—CONTROL HISTOLOGICO EN RATAS TRAS
HEPATECTOMIA PARCIAL

		DIAS →	2ª	3ª	4ª	5ª	10ª	12ª	16ª	19ª	22ª	
HEPATOCITOS	NUCLEOS	TAMAÑO MEDIO →	●●	●●	●●●	●●	●●	●	●●	●●	●●	
		POLIPLOIDIA →	●●	●●	●●	●●	●	●	●●	●●	●●	
		MITOSIS →	●●●	●●	●	●	●	●	●●	●●	●●	
	/ / / / / / / / / / / / / / / /											
	CITOPLASMA	NECROSIS →	0	●	0	0	●	0	0	0	0	
		ACIDOFILIA →	0	0	0	0	●	●	●	●	●	
		GLUCOGENO →	●	●●●	●	●	●	●	●	●●	●	
		GRASA →	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	/ / / / / / / / / / / / / / / /											
	CELULAS KUPFFER	NUMERO →	●	●	●	●●	●●	●	●	●●	●●	
ACTIVIDAD →		●●	●	●	●●	●	●	●	●●	●●		
/ / / / / / / / / / / / / / / /												
SINUSOIDES	DESTACAN →	●	●	●●	●●	●	●	●	●●	●		
	SANGRE CONTENIDA →	●	0	●	●	●●	0	●●	●●	●		
/ / / / / / / / / / / / / / / /												
VENAS CENTRALES PRESENCIA Y TAMAÑO →		●●	●	●	●●	●	●	●	●●	●●		
/ / / / / / / / / / / / / / / /												
TRIADAS	INFILTRACION LINFOCITOS →	●	●	●	●	●	●	●	●	●		
	VENA PORTA →	●	●	●	●	●	●●	●●	●●	●●		
	ARTERIA HEPATICA →	●	●	●	●	●	●	●	●	●		
	CONDUCTOS BILIARES →	●	●	●	●	●	●	●	●	●		
/ / / / / / / / / / / / / / / /												
REGENERACION Y SU GRADO →		●●	●●	●●	●●●	●	●	●●	●●	●●		
/ / / / / / / / / / / / / / / /												
FIBROSIS Y SU CUANTIA →		0	0	0	0	0	0	0	0	0		

-no existe; ● -normal; ●● -aumentado; ●●● -muy aumentado.

Fig. 1: BALANCE DE NITROGENO EN RATAS HEPATECTOMIZADAS (dieta 4% proteina)

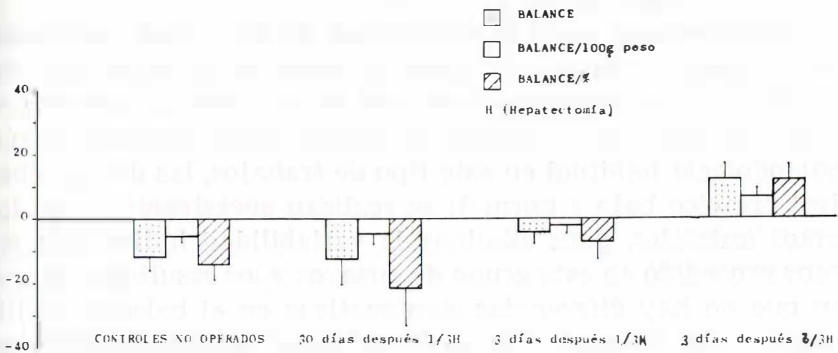
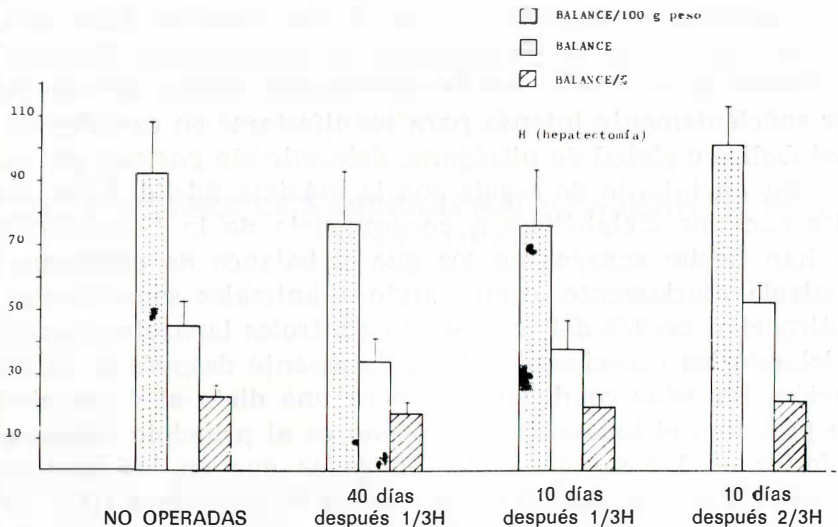


Fig. 2: BALANCE DE NITROGENO EN RATAS HEPATECTOMIZADAS (dieta 18% proteina)



una disminución significativa ($P < 0,001$) de la excreción urinaria de nitrógeno; el balance de nitrógeno pasa a ser positivo, y es significativamente diferente del observado en los controles ($P < 0,01$). Puesto que estos experimentos se han realizado dentro del período de máxima regeneración hepática, pensamos que el efecto favorable sobre la retención de nitrógeno se debe

precisamente al intenso anabolismo proteico, necesario para el proceso de regeneración y cuya intensidad depende de la extensión de la hepatectomía (9), (10).

Evidentemente cabe la posibilidad de que estos resultados estén condicionados por el nivel proteico de la dieta, que en estos ensayos es realmente bajo, por lo que parecía interesante estudiar lo que ocurre cuando se eleva el nivel proteico. Según la metodología habitual en este tipo de trabajos, las dos pruebas (nivel proteico bajo y normal) se realizan sucesivamente en los mismos animales, para eliminar la variabilidad individual; así hemos procedido en este grupo de ensayos y los resultados muestran que no hay diferencias significativas en el balance de nitrógeno entre los cuatro lotes de animales: controles intactos, cuarenta días después de la extirpación de 1/3 del hígado, diez días después del mismo tipo de operación y diez días después de la extirpación de 2/3 del hígado. Probablemente la ausencia de diferencias sea debida al factor tiempo, y debemos admitir que en el momento de llevar a cabo los experimentos el hígado se encontraba recuperado; a pesar de que nuestros datos histológicos junto con los bibliográficos ya comentados indican la existencia de una actividad de regeneración tardía, esto no debe ser suficientemente intensa para manifestarse en cambios en el metabolismo global de nitrógeno, determinado por este sistema.

En un intento de seguir con la máxima fidelidad los posibles cambios metabólicos a consecuencia de la hepatectomía, se han hecho ensayos en los que el balance de nitrógeno se controla diariamente, comparando a animales sometidos a la extirpación de 2/3 del hígado con controles laparotomizados, e iniciando los experimentos inmediatamente después de la operación. En estas condiciones, y para una dieta al 4 por ciento de proteína, el balance de nitrógeno es al principio netamente inferior en las ratas hepatectomizadas que en las controles, siendo las diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,01$) durante los dos días que siguen a la intervención (fig. 3); a continuación los balances en ambos lotes de animales se igualan y se acercan a cero como corresponde al nivel proteico empleado en la dieta. Si expresamos el balance de nitrógeno por cien gramos de peso (fig. 4), para descartar la influencia que pudiera tener la diferencia de peso en ambos lotes de animales, y el balance de nitrógeno por gramo de sustancia seca ingerida (fig. 5)

Fig. 3: BALANCE DE NITROGENO CONTROLADO DIARIAMENTE
(dieta 4% proteina)

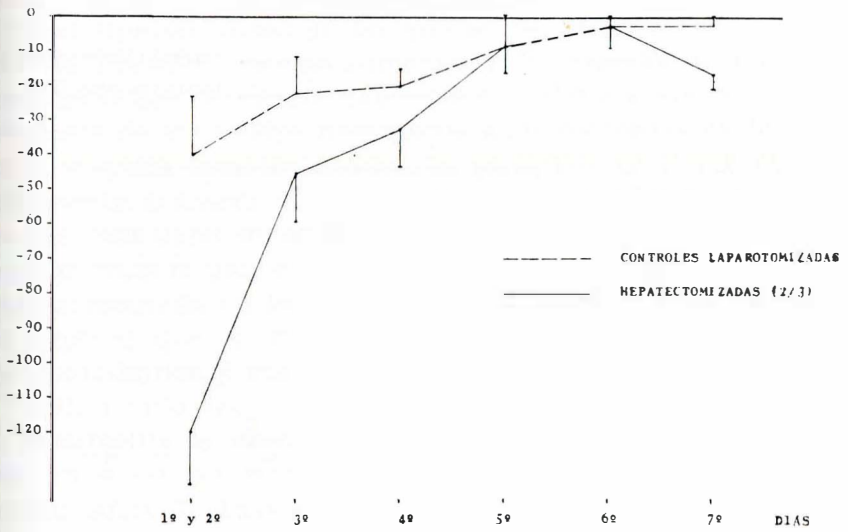


Fig. 4: BALANCE DE NITROGENO POR 100 GRAMOS DE PESO
(dieta 4% proteina)

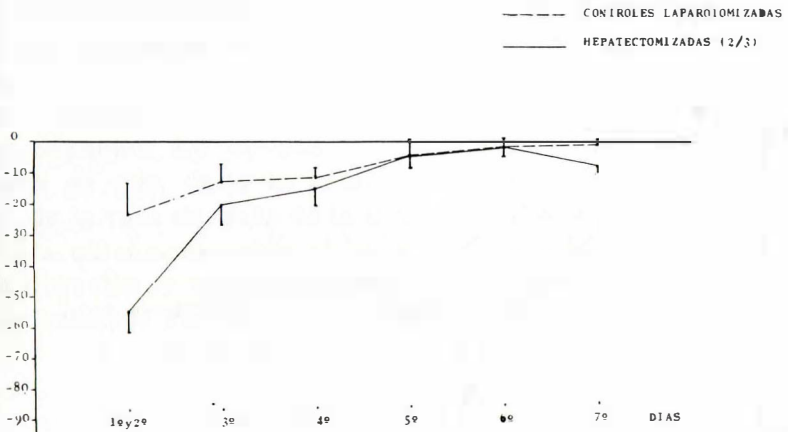
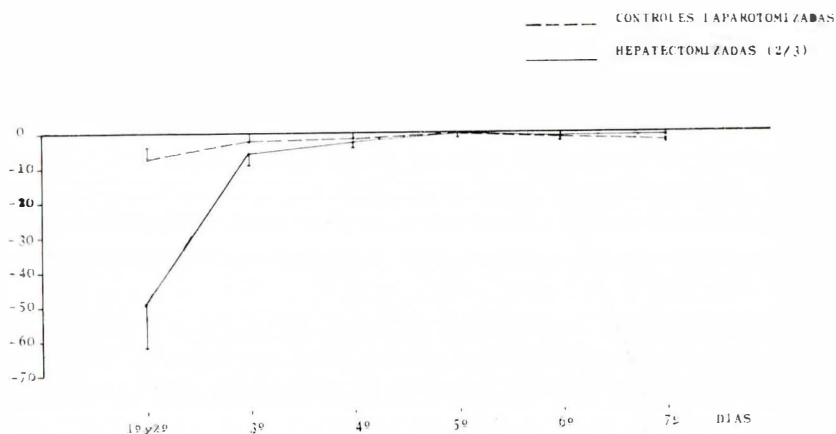
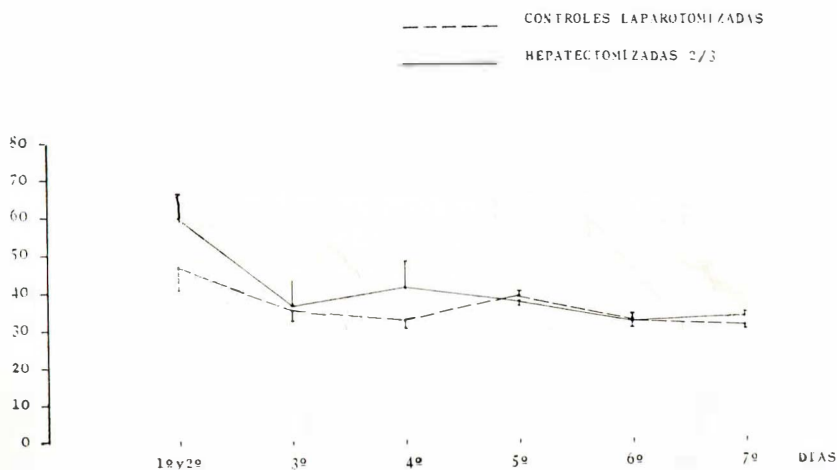


Fig. 5: BALANCE DE NITROGENO POR GRAMO DE S. SECA INGERIDA
(dieta 4% proteina)



para evitar la influencia de la ingesta, observamos que se siguen manteniendo las mismas diferencias significativas en el balance entre el lote control y el hepatectomizado. Ello quiere decir que los cambios iniciales en el balance dependen fundamentalmente de la excreción urinaria de nitrógeno. Y en efecto (fig. 6) la ex-

Fig. 6: mg N urinarios/100 g peso (dieta 4% proteina)



creción urinaria de nitrógeno en ratas hepatectomizadas se encuentra significativamente aumentada en los primeros días y va disminuyendo, disminución que se hace significativa en el sexto día. Creemos que este aumento en la excreción urinaria de nitrógeno se debe fundamentalmente a la eliminación del mismo procedente de los tejidos necrosados a consecuencia de la operación, y quizá también influya la situación de stress con la consiguiente descarga de glucocorticoides (8), (10), (11), situación que debe darse en ambos lotes de animales; de hecho también observamos una excreción urinaria de nitrógeno inicialmente aumentada en los controles laparatomizados, pero es lógico suponer que el stress sea más intenso en los animales hepatectomizados, y sus efectos más marcados, como así ocurre en nuestros ensayos.

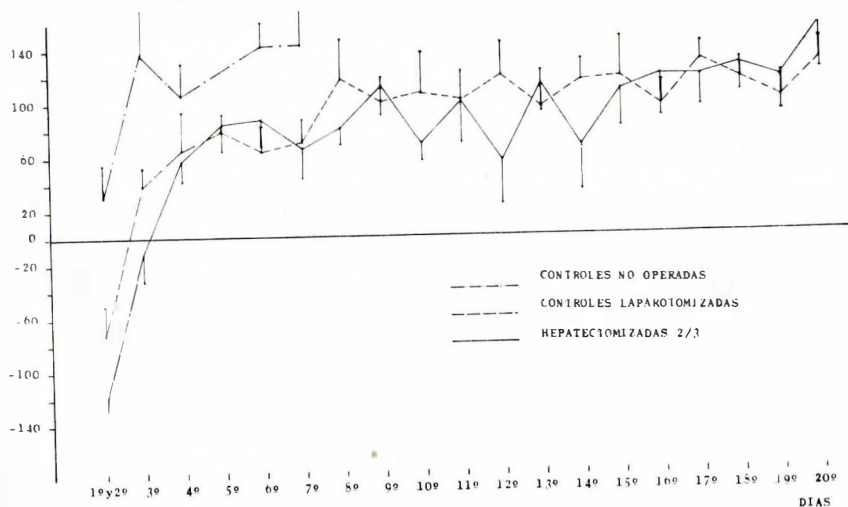
Finalmente la disminución significativa en la ingesta que observamos en las ratas hepatectomizadas, podría explicarse también sobre la base del stress derivado de la intervención quirúrgica.

Al comparar los resultados del balance de nitrógeno diario con el obtenido globalmente según la técnica habitual, siempre al 4 por ciento de proteína en la dieta, nos encontramos con diferencias aparentemente incomprensibles: cuando el balance se controla globalmente las ratas sometidas a la extirpación de $\frac{2}{3}$ de hígado tienen un balance ligeramente positivo, frente al ligeramente negativo de los controles, mientras que cuando el balance se controla a diario es inicialmente más negativo en las ratas hepatectomizadas; todo ello se explica en función de los diferentes periodos experimentales, ya que las diferencias importantes a favor de los controles existen solamente durante los tres primeros días, y este efecto se diluye en los ensayos de mayor duración. En conjunto estos datos confirman nuestra hipótesis de que, dada la gran velocidad de regeneración del hígado de la rata después de la hepatectomía, los efectos de esta maniobra quirúrgica sobre el balance de nitrógeno son de muy escasa duración, y muy probablemente inespecíficos.

Los ensayos realizados en forma análoga a los anteriores, pero con una dieta al 18 por ciento de proteína, con una duración mayor (veinte días) y añadiendo en los siete primeros días un lote control de animales intactos, para aquilatar mejor las influencias del stress, confirman en términos generales todo lo

ya indicado, y aportan alguna información complementaria. El balance de nitrógeno (fig. 7) es al principio claramente negativo en ratas hepatectomizadas y laparotomizadas frente al lote control no operado, para el cual los valores iniciales, si bien más bajos que los posteriores, son positivos. El balance aumenta en los tres lotes de animales y tiende a estabilizarse a partir del cuarto día, aunque con oscilaciones lógicas que persisten durante todo el período experimental.

Fig. 7: BALANCE DE NITROGENO (dieta 18% proteína)



Lamentablemente no hemos encontrado en la bibliografía datos acerca del balance de nitrógeno en animales hepatectomizados; los resultados descritos sobre cambios en la síntesis hepática de proteínas (1), (12), no están en contradicción con los observados por nosotros. Globalmente nuestros ensayos apoyan de forma indirecta la opinión de diversos autores (8), (13), que sostienen que una pequeña parte del tejido hepático es capaz de mantener las funciones normales de este órgano.

Sobre la digestibilidad de la grasa

La extirpación de un lóbulo hepático (Tabla II) o de dos lóbulos, no afecta a la digestibilidad de la grasa, ya que si bien se aprecia una tendencia a que este índice disminuya en los

TABLA II

DIGESTIBILIDAD DE LA GRASA EN RATAS HEPATECTOMIZADAS

	n.º ratas	Peso medio g	mg. grasa ing./rata/ día	mg. grasa elimi./rata/ día	C.D.A.
40 días des- pués 1/3 H.	10	249,0 ± 17,4	430,8 ± 22,3	116,3 ± 8,4	72,4 ± 2,5
10 días des- pués 1/3 H.	10	207,3 ± 6,5	408,4 ± 24,5	109,6	72,9 ± 1,3
10 días des- pués 2/3 H.	9	192,5 ± 3,9	492,5 ± 13,5	129,9 ± 6,2	73,6 ± 1,1
No operadas	9	213,2 ± 10,7	451,1 ± 29,8	110,3 ± 9,8	75,8 ± 1,0

animales hepatectomizados, no existen diferencias significativas frente a los controles no operados. Aún suponiendo que la hepatectomía altere profundamente la secreción biliar, y admitiendo que la bilis sea fundamental para la digestión y absorción de la grasa, nuestros resultados no son de extrañar, ya que, dada la extraordinaria velocidad de regeneración del hígado de la rata, los posibles efectos sobre la digestibilidad de la grasa quedarían muy enmascarados en nuestras condiciones experimentales.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BUCHER, N. L. R.: *J. Med. New Engl.*, 277, 686-696 (1967).
- (2) GUNTHER, G.; HUBNER, K.; PAUL, H.: *Virchrows. Arch. Z. Zellpath.*, 1, 69-79 (1968).
- (3) STIRLING, G. A.; LAUGHLIN, J.; WASHINGTON, S. L. A.: *Nutr. Abs. Rev.*, 44, 7280 (1974).
- (5) THOMPSON, A.: *J. Int. Anim. Technol.*, 21, 25 (1970).
- (6) HANSON, K. M.; JOHNSON, P. C.: *Am. J. Physiol.*, 211, 712-719 (1966).
- (7) NAJJAR, F.; ILBAWI, M.; NOLTENIUS, H.: *Lab. Med. J.*, 27 (6), 703-711 (1974).
- (8) HAUG, H.; SCHAUM, W.; STRIK, W.; ROWECK, H.: *Acta Hepato-Gastroenterology*, 20, 467-483 (1973).
- (9) BUCHER, N. L. R.; SWAFFIEL, M. N.: *Cancer Res.*, 24, 1611 (1964).

- (10) WOOD, C. B.; KARRAN, S. J.; BLUMGART, L. H.: *Br. J. Surg.*, 60, 613-617 (1973).
- (11) WITEK-JANUSEK, L.; MAROTTA, S. F.: *Fed. Proc.*, 37, 812 (1978).
- (12) ARRAN, S. J.; LEECH, K. G.; BLUMGART, L. H.: *Br. J. Sur.*, 59, 907 (1972).
- (13) KLASSEN, C. D.: *J. Pharmacol. & Expl. Therapeutics*, 191, 25-30 (1974).

RESUMEN

Hemos estudiado el balance de nitrógeno en ratas adultas hepatectomizadas con dieta de bajo nivel proteico (4%) y con dieta de nivel proteico normal (18%), y digestibilidad de la grasa en los mismos animales con un nivel graso en la dieta normal (4%), encontrando los siguientes resultados:

1) Un mes después de la hepatectomía parcial la recuperación funcional del hígado es completa desde todos los puntos de vista estudiados por nosotros.

2) Los efectos negativos de la hepatectomía sobre el balance de nitrógeno son pasajeros; su duración queda circunscrita a los tres primeros días después de la intervención quirúrgica, para volver inmediatamente a la normalidad.

3) Los efectos negativos de la hepatectomía sobre el balance de nitrógeno son inespecíficos y dependen de la influencia de la situación de stress y del trauma quirúrgico ejercida a través de cambios en la ingesta y en la excreción urinaria de nitrógeno.

4) La gran capacidad funcional de reserva del hígado de la rata, aparte de su extraordinaria velocidad de regeneración, condiciona el hecho de que solamente se observen ligeras y pasajeras alteraciones a consecuencia de la hepatectomía.

SUMMARY

The nitrogen balance in hepatectomized adult rats fed with either a low-protein diet (4%) or a normal-protein diet (18%, and fat digestibility in the same animals fed with a normal fat diet (4%), were studied.

1) The functional recovery of the liver was complete one month after partial hepatectomy, with regard to the parameters considered.

2) The negative effects of the hepatectomy on the nitrogen balance are transient: after three days it becomes normal.

3) These effects that are inespecific, are conditioned by the stress situation and the surgical damage and mediated by change both in levels of intake and nitrogen urinary excretion.

4) The slight and transient alterations in the physiological parameters above mentioned, can be explained by the great functional residual capacity of the rat liver and its unusual regeneration rate.