

## Aspectos histofisiológicos del intestino remanente de ratas sometidas a una resección parcial de intestino delgado

M. J. Delgado, J. Moreno \*, M. L. Murillo, J. Bolufer y J. L. López-Campos \*

Departamento de Fisiología Animal  
Facultad de Farmacia  
41012 Sevilla

(Recibido el 18 de junio de 1985)

M. J. DELGADO, J. MORENO, M. L. MURILLO, J. BOLUFER and J. L. LOPEZ-CAMPOS. *Histophysiological Changes of the Remnant Intestine After Distal Small Intestinal Resection in the Rat*. Rev. esp. Fisiol., 42 (2), 205-212. 1986.

The effect of small bowel resection on the morphology, mucous secretion and alkaline phosphatase activity of the remnant intestine was studied five months after surgical operation. Distal small bowel resection produced hyperplasia and infiltration of lymphocytes. The intestinal neutral and acid mucosubstances, and the alkaline phosphatase activity were increased in resected animals, whilst the sulphomucines content of goblet cells was unaltered. The serical alkaline phosphatase activity two and five months after resection was also increased.

**Key words:** Alkaline phosphatase, Intestine, Mucous secretion, Resection.

El intestino, así como el hígado y el riñón, posee una reserva funcional importante y una gran capacidad regenerativa. Aunque el crecimiento compensatorio del intestino delgado tras resección parcial, afecta a todas las capas de la pared intestinal (13), la adaptación es más potente en la vellosidad y en la cripta (3, 24). Cuando la resección es proximal, la respuesta postoperatoria es más acusada que cuando es distal, ya que la alteración a que se ve sometida la parte ileal en cuanto a llegada de nutrientes y secreciones intestinales, es mucho mayor

que la que se produce en el duodeno y yeyuno si la resección es distal (2, 4, 5).

ROBINSON *et al.* (31) han apuntado la posibilidad de que se produzcan cambios en la madurez de la población celular, al encontrar disminuida la velocidad máxima de absorción de azúcares y aminoácidos en el íleon remanente; sin embargo, COLIN (3) afirma que los enterocitos se comportan como células maduras. Tampoco parece haber acuerdo en cuanto al número de células calciformes, y su alteración tras la resección intestinal; mientras PORUS (30) describe una disminución, ROBINSON (32) aprecia aumento.

Considerando además que el tiempo postoperatorio, al que se han realizado la mayoría de los trabajos publicados, po-

\* Departamento de Citología e Histología.  
Facultad de Biología, 41012 Sevilla.  
Correspondencia: Dr. M. J. Delgado.

dría ser insuficiente para conocer el verdadero alcance de la adaptación, el propósito del presente trabajo fue estudiar la morfología del epitelio, la histoquímica de las células calciformes y la actividad fosfatasa alcalina, con objeto de comprobar si el estado funcional de las células permanece inalterado, o sufre algún tipo de adaptación ante la nueva situación fisiológica.

### Material y Métodos

Se han utilizado ratas Wistar, con un peso medio inicial de 250 g. Un primer grupo, considerado control, no fue sometido a ningún tipo de tratamiento. Al segundo, le fue extirpado el 50 % del intestino delgado, comenzando en la válvula ileocecal en dirección craneal. Al tercer grupo se le extirpó el 80 % del intestino delgado distal. A los dos y cinco meses de la operación, se obtuvieron muestras de sangre, en las que se determinó la actividad fosfatasa alcalina sérica por el método de BESSEY (1) modificado por MORGENSTERN (25).

Las muestras de intestino se extrajeron cinco meses después de la operación, fijándose en formol tamponado, y acetona al 100 % para la realización de las técnicas histológicas.

Se han aplicado las siguientes técnicas histológicas: Azul de toluidina, secuencia ácido peryódico-Schiff (PAS) (23), azul alcian (AA) a pH 0,5 y 1 (19) y pH 2,5 (26), PAS-azul alcian (27), hialuronidasa (34), metilación (7) y metilación-saponificación (35) previas al azul alcian pH 2,5, test de diaminas (HID) (33), y fosfatasa alcalina (10).

La cuantificación de los resultados de las técnicas histoquímicas se ha hecho utilizando un citofotómetro Vickers M 85.

### Resultados

Se ha detectado hiperplasia de las vellosidades en animales con resección del 50 y del 80 %, siendo patente tanto el aumento de longitud de la vellosidad, como el incremento en la lámina propia de las mismas. La superficie de la vellosidad en los animales operados, aparece más irregular que la de los control, coincidiendo en general las hendiduras con células calciformes (fig. 1). También es más frecuente encontrar erosiones en la zona apical de los enterocitos en los tejidos problema. Con frecuencia, se encuentran en los tejidos remanentes fenómenos de infiltración linfocitaria, siendo éstos más acentuados en los casos de resección del 80 %.

Tabla I. *Mucosustancias ácidas en yeyuno de ratas control y reseccionadas.*

La determinación citofotométrica se realizó en cortes de tejido de ratas control y con resección del 50 y 80 % de intestino delgado distal, cinco meses después de la operación. Los resultados se expresan como absorbancia/cm<sup>2</sup>, a una longitud de onda de 600 nm (media  $\pm$  S.E.).  
Número de datos entre paréntesis.

Azul alcian pH	Resección (%)		
	Control	50	80
2,5	2,06 $\pm$ 0,05 (30)	2,68 $\pm$ 0,05 (30)*	2,41 $\pm$ 0,05 (31)*
1	1,44 $\pm$ 0,04 (28)	1,22 $\pm$ 0,03 (31)	1,32 $\pm$ 0,03 (30)
0,5	1,16 $\pm$ 0,02 (29)	1,04 $\pm$ 0,02 (30)	1,10 $\pm$ 0,04 (29)

\* Diferencias significativas respecto al grupo control ( $p < 0,001$ ). Test de Student.

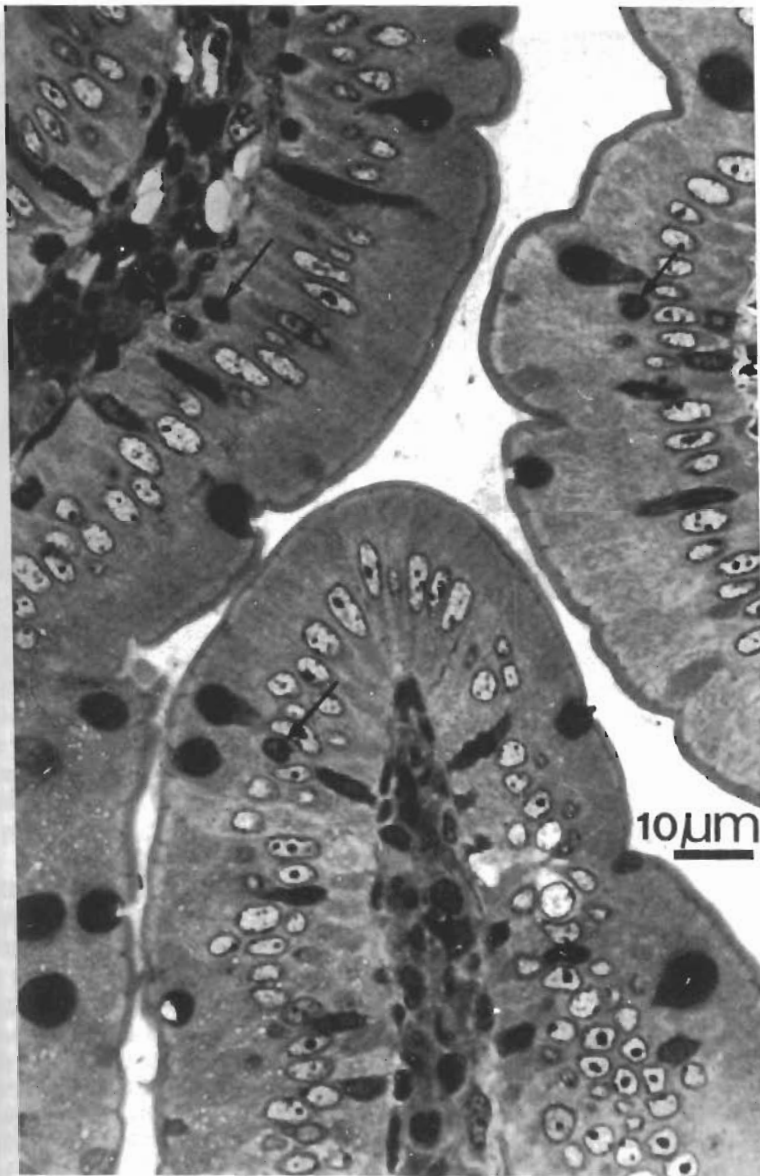


Fig. 1. Sección longitudinal de una vellosidad intestinal correspondiente al yeyuno de un animal con resección del 80% de intestino delgado distal.

Nótese el contorno de la vellosidad intestinal. Tanto el borde en cepillo como el retículo terminal y los complejos de unión se encuentran conservados. La infiltración linfocitaria (↑) es muy patente. En la lámina basal, la presencia de células plasmáticas (▲) es mayor que en ratas control (× 1.200).

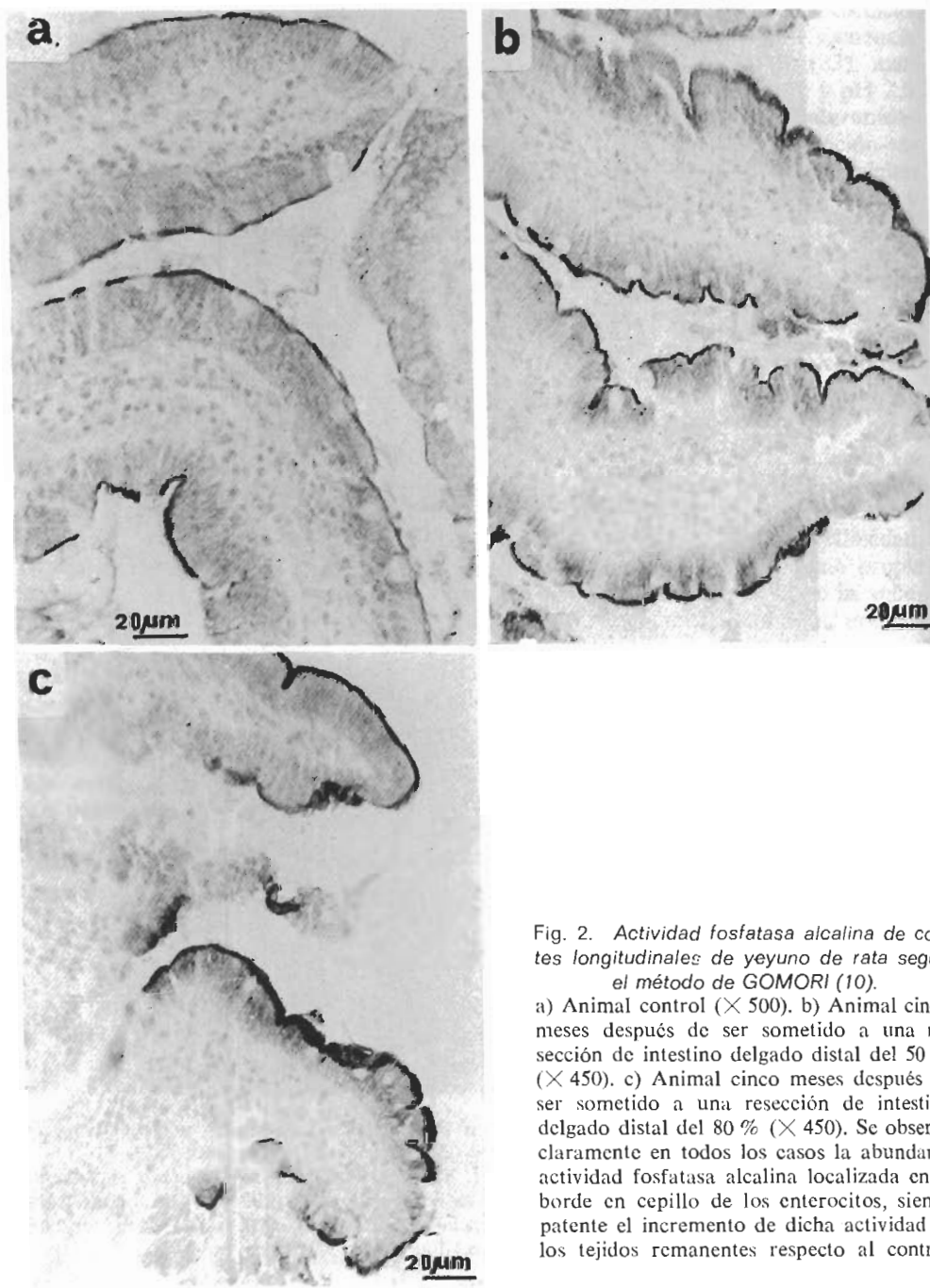


Fig. 2. Actividad fosfatasa alcalina de cortes longitudinales de yeyuno de rata según el método de GOMORI (10).

a) Animal control ( $\times 500$ ). b) Animal cinco meses después de ser sometido a una resección de intestino delgado distal del 50 % ( $\times 450$ ). c) Animal cinco meses después de ser sometido a una resección de intestino delgado distal del 80 % ( $\times 450$ ). Se observa claramente en todos los casos la abundante actividad fosfatasa alcalina localizada en el borde en cepillo de los enterocitos, siendo patente el incremento de dicha actividad en los tejidos remanentes respecto al control.

La evaluación cualitativa de la composición de las mucosustancias producidas por las células caliciformes en los tres grupos de ratas, se ha llevado a cabo aplicando las técnicas convencionales, procediéndose a la cuantificación de los resultados en el caso de AA a distintos pH. Las mucosustancias neutras, visualizadas por el método de ácido peryódico-Schiff, revelan un aumento de las mismas en las células caliciformes de los tejidos problema respecto a los control. Por otro lado, aplicando el colorante catiónico AA a pH 2,5, se advierte un fuerte incremento de mucosustancias ácidas en las ratas operadas respecto a las controles. Estos resultados se han corroborado al aplicar técnicas citoespectrofotométricas (tabla I). A pH inferiores (1 y 0,5), tal incremento desaparece, obteniendo valores de relación absorción superficie incluso algo menores que los control.

Se confirma que la mayor parte del exceso de las mucosustancias contenidas en los tejidos remanentes, están relacionadas con el ácido hialurónico, ya que al realizar una digestión con hialuronidasa, la intensidad de la coloración al azul alcian a pH 2,5 es similar a la de los controles.

El contenido en grupos sulfato de los tejidos problemas, no sufre modificaciones en ningún caso, como se ha comprobado con técnicas de metilación y metilación-saponificación, y corroborado con el test de diaminas.

Al aplicar conjuntamente la secuencia PAS-AA, se observa a pH 2,5 un mayor predominio de mucosustancias ácidas en los intestinos remanentes, tendencia que desaparece a pH inferiores.

Al determinar histoquímicamente la actividad fosfatasa alcalina en el borde en cepillo de la mucosa intestinal de yeyuno de animales control y sometidos a una resección parcial de intestino delgado distal, se observó un claro incremento de dicha actividad enzimática (fig. 2), y se confirma con los valores de relación ab-

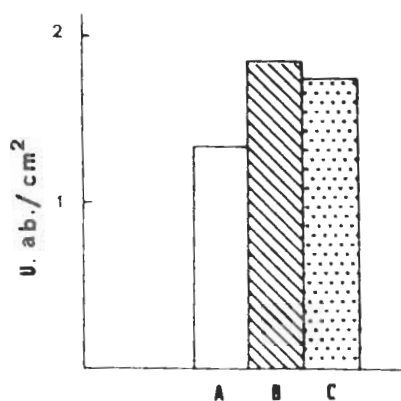


Fig. 3. Fosfatasa alcalina tisular en yeyuno de ratas control (A) y con resección del 50 % (B) y del 80 % (C) del intestino delgado distal. El estudio histoquímico se realizó cinco meses después de la resección. Tinción según la técnica de GOMORI (10) cuantificándose la actividad enzimática citofotométricamente a una  $\lambda$  de 500 nm. En ordenadas se indican las unidades de absorción/cm<sup>2</sup> de superficie.

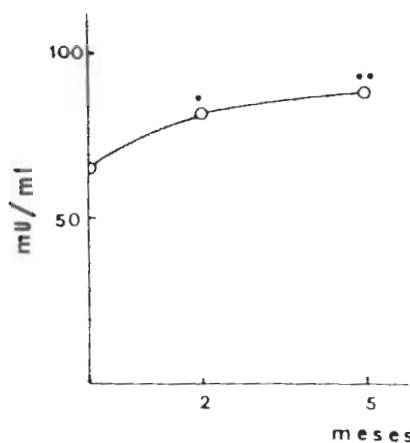


Fig. 4. Fosfatasa alcalina sérica en ratas control y reseccionadas.

Las determinaciones se hicieron dos y cinco meses después de una resección del 50 % del intestino delgado distal. En ordenadas se expresan las unidades enzimáticas/ml de suero. La comparación de medias se hizo por el test de *t* de Student. \*  $p < 0,025$ ; \*\*  $p < 0,001$ .

sorción/superficie (cm<sup>2</sup>) obtenidos mediante una determinación citoespectrofotométrica. Los resultados indican un claro aumento de la actividad enzimática después de cinco meses de la resección en los dos grupos de animales operados respecto a los control, resultando diferencias claramente significativas en ambos casos (fig. 3).

La actividad fosfatasa alcalina detectada en el suero de animales con el 50 % de resección, a distintos tiempos tras la operación, alcanza diferencias significativas respecto a los controles, tanto a los dos meses como cinco meses después de la operación (fig. 4).

### Discusión

La interpretación más ampliamente admitida en la actualidad para explicar los mecanismos que controlan la hiperplasia intestinal, es la de que existe una acción combinada entre los nutrientes intraluminales (5) y los agentes humorales (20), sin conocerse por el momento los mecanismos de acción ni su regulación (38).

MENGE y ROBINSON (24) observaron que tras resección proximal se producía un aumento de la altura y una disminución de la anchura de los enterocitos. Esto podría explicar los cambios expuestos en el presente trabajo, respecto al contorno de la vellosidad; al aumentar la altura de los enterocitos y no variar la de las células caliciformes, aparecerán hendiduras a nivel del polo apical del elemento caliciforme.

Los aumentos de secreción de mucus en el intestino se relacionan, generalmente, con un efecto protector sobre la mucosa contra la acción de ácidos o enzimas proteolíticos (8, 14), resultando más rápida la síntesis y secreción de glicoproteínas en pacientes con colitis ulcerativa y, también, en las proximidades de zonas lesionadas de la mucosa gástrica (14). Hasta el momento, la mayoría de los es-

fuerzos se han encaminado al aislamiento y caracterización de los glicoconjugados, o a conocer los efectos estimulantes o inhibitorios de determinados principios activos sobre su síntesis y liberación (29).

En el presente trabajo se observa el efecto estimulante de la resección intestinal sobre la producción de mucosustancias, hecho que podría tener significación en la capacidad de transporte del epitelio intestinal, ya que la permeabilidad es inversamente proporcional a la concentración de mucus en el lumen (9, 12).

En estudios de isoenzimas en suero de rata, se ha encontrado que la fosfatasa alcalina circulante en este animal es exclusivamente de origen intestinal (11, 22). GUPTA *et al.* (12) obtienen valores de fosfatasa alcalina sérica tras resección distal, menores que los controles, considerando que a medida que transcurre el tiempo se recuperan progresivamente los valores, e indican que la fosfatasa alcalina sérica podría ser un índice del estado de regeneración mucosal del intestino remanente. Los resultados aquí descritos podrían corroborar estas apreciaciones, ya que los valores se incrementan significativamente después de un tiempo prolongado tras la operación.

Sin embargo, otros autores (6, 28, 36), al determinar la actividad enzimática tisular, encuentran resultados contradictorios, que podrían deberse a diversas condiciones experimentales y a la especie animal utilizada. NAKAYA (28) determinó histoquímicamente la fosfatasa alcalina en intestino delgado de perros sometidos a resecciones proximal, media y distal, hasta un mes después de la operación. Demostró un aumento de esta actividad enzimática, mayor en íleon residual después de resección proximal, que en yeyuno tras una resección distal, atribuyéndose este efecto al aumento en íleon remanente de la carga de nutrientes. Sin embargo, el aumento de la actividad enzimática del intestino residual obtenido en el presente trabajo, no puede produ-



cirse por efecto de una mayor carga de nutrientes, ya que se produce tras una resección distal, por lo que en la regulación de la actividad fosfatasa alcalina intestinal en la rata, deben intervenir otros factores.

La ligadura del conducto biliar produce un aumento en la actividad fosfatasa alcalina hepática e intestinal (15-17) y se ha observado que el contenido en AMP cíclico intestinal y hepático aumenta después de la ligadura (18), por lo que podría estar implicado en la inducción de la fosfatasa alcalina. Por otra parte, la resección provoca un descenso en la concentración de sales biliares en la bilis de rata (37), lo que podría originar unos efectos similares a los de la ligadura del conducto biliar, y ser responsable de la inducción de la fosfatasa alcalina encontrada en los intestinos remanentes.

#### Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado gracias a una ayuda de la «Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica» (n.º 0336-81). Queremos expresar nuestro agradecimiento al Prof. A. Torres, por su colaboración en las determinaciones citofotométricas, y a la señorita R. Navarro por su labor técnica.

#### Resumen

Se estudian los efectos de la resección del intestino delgado distal en la morfología, secreción de mucosustancias y actividad de la fosfatasa alcalina del intestino remanente, cinco meses después de la operación quirúrgica. La resección intestinal produce hiperplasia e infiltración linfocitaria. Se observa un aumento de las mucosustancias neutras y ácidas, así como de la actividad fosfatasa alcalina, mientras que el contenido en sulfomucinas de las células caliciformes no varía tras la resección. La actividad de la fosfatasa alcalina sérica, determinada dos y cinco meses después de la resección, también se encuentra aumentada.

#### Bibliografía

1. Bessey, J.: *J. Biol. Chem.*, **164**, 321-329, 1946.
2. Booth, C. C., Evans, K. T., Menzies, T. y Street, D. F.: *Brit. J. Surg.*, **46**, 403-410, 1959.
3. Colin, R.: *Gastroenterol. Clin. Biol.*, **6**, 153-155, 1982.
4. Dowling, R. H. y Booth, C. C.: *Lancet*, **2**, 146-147, 1966.
5. Dowling, R. H. y Gleeson, M. H.: *Digestion*, **8**, 176-190, 1973.
6. Feldman, E. J., Peters, T. J., McNaughton, J. y Dowling, R. H.: *Gastroenterology*, **66**, 691, 1974.
7. Ficher, E. R. y Lillie, R. D.: *J. Histochem. Cytochem.*, **2**, 81-87, 1954.
8. Florey, H. W.: *Gastroenterology*, **43**, 326-329, 1962.
9. Gilles-Baillien, M.: En «Intestinal Transport» (Gilles-Baillien, M., Gilles, R., eds.). Springer-Verlag, Berlín, 1983, pp. 103-119.
10. Gomori, G. J.: *Cell Comp. Physiol.*, **17**, 71-79, 1968.
11. Gould, B. S.: *Arch. Biochem.*, **4**, 175-181, 1944.
12. Gupta, M. C., Neale, G. y Dowling, R. H.: *Gut*, **14**, 438-448, 1973.
13. Hanson, W. R., Osborne, J. W. y Sharp, J. G.: *Gastroenterology*, **72**, 692-700, 1977.
14. Helander, H.: *J. Submicrosc. Cytol.*, **15**, 627-643, 1983.
15. Kaplan, M. M. y Righetti, A.: *J. Clin. Invest.*, **49**, 508-516, 1970.
16. Komoda, T., Nagata, A., Sakagishi, Y., Yajima, T. y Kumegawa, M.: *Seikagaku*, **53**, 1913-1918, 1981.
17. Komoda, T., Sakagishi, Y., Yajima, T. y Kumegawa, M.: *Seikagaku*, **52**, 883-889, 1980.
18. Koyama, I., Komoda, T., Sakagishi, Y. y Kurata, M.: *Biochim. Biophys. Acta*, **760**, 169-174, 1983.
19. Lev, R. y Spicer, S.S.: *J. Histochem. Cytochem.*, **12**, 309-310, 1964.
20. Loran, M. R. y Althausen, T. L.: *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, 667-671, 1970.
21. Lukie, B. E.: En «Mucus Secretions and Cystic Fibrosis», *Mod. Probl. Pediat.* (Forstner, G. G., ed.). Karger, Basilea, 1977, vol. 19, pp. 46-53.
22. Madsen, N. B. y Tuba, J.: *J. Biol. Chem.*, **195**, 741-750, 1952.

23. McManus, J. F. A.: *Nature (London)*, **15**, 202, 1946.
24. Menge, H. y Robinson, J. W. L.: *Res. Exp. Med.*, **173**, 41-51, 1978.
25. Morgenstern, R.: *Clin. Chem.*, **11**, 876-882, 1965.
26. Mowry, R. W.: *J. Histochem. Cytochem.*, **1**, 407-408, 1956.
27. Mowry, R. W. y Winkler, C. H.: *Amer. J. Path.*, **32**, 628-629, 1956.
28. Nakaya, S.: *Hirosaki Med. J.*, **26**, 350-364, 1974.
29. Neutra, M. R., O'Malley, L. J. y Specian, R. D.: *Amer. J. Physiol. (Gastrointest. Liver Physiol., 5)*, **242**, G380-G387, 1982.
30. Porus, R. L.: *Gastroenterology*, **48**, 753-757, 1965.
31. Robinson, J. W. L., Van Melle, G., Riecken, E. O. y Menge, H.: *Res. Exp. Med.*, **181**, 95-104, 1982.
32. Robinson, J. W. L., Macarone-Palmieri, R., Winistorfer, B. y Mirkovitch, V.: En «Mechanisms of intestinal Adaptation» (Robinson, J. W. L., ed.). MTP Press Limited, Lancaster, 1982, pp. 399-408.
33. Spicer, S. S.: *J. Histochem. Cytochem.*, **13**, 211-234, 1965.
34. Spicer, S. S., Horm, R. G. y Leppi, T. J.: En «The Connective Tissue», Williams and Wilkins, Baltimore, 1967, pp. 251-303.
35. Spicer, S. S. y Lillie, R. D.: *J. Histochem. Cytochem.*, **7**, 123-125, 1959.
36. Urban, E. y Haley, D.: *Clin. Res.*, **23**, 46A, 1975.
37. Vázquez, C. M., Murillo, M. L. y Bolufer, J.: *Rev. esp. Fisiol.*, **42**, 125-128, 1986.
38. Williamson, R. C. N. y Chir, M.: *New Engl. J. Med.*, **298**, 1393-1402, 1978.