

Derivación biliopancreática de Larrad. Descripción de un modelo experimental en la rata

Álvaro Larrad Jiménez^a, María del Pilar Álvarez^b, María del Pilar Fernández^b, Pilar Cano^c, Vanesa Jiménez Ortega^c y Ana Isabel Esquifino^c

^aServicio de Cirugía General y Digestiva. Unidad de Cirugía Endocrinometabólica. Hospital Quirón. Madrid. España.

^bDepartamento de Biología Celular. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España.

^cDepartamento de Bioquímica y Biología Molecular III. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España.

Resumen

Objetivo. Validar un modelo experimental de derivación biliopancreática de Larrad (DBPL) y analizar las modificaciones ponderales y mortalidad en los animales operados alimentados con dieta estándar no suplementada.

Material y método. Se utilizan 6 animales control y 10 operados, machos de la cepa Wistar. Se interviene al grupo de ratas operado con una adaptación de la técnica de Larrad en humanos: gastrectomía subcardial, canal biliopancreático corto creado a 5 cm del ángulo de Treitz y canal común a 5 cm de la válvula ileocecal. Tras un período de recuperación de 7 días las ratas se alimentan ad libitum con una dieta estándar no suplementada (sin proteínas, minerales o vitaminas), y se analiza el porcentaje de peso ganado o perdido.

Resultados. Los animales control ganan peso progresivamente desde un $13,1 \pm 2,4\%$ en el día 7 hasta un $58 \pm 9,2\%$ en el día 63, momento en el que se los sacrificaba. Tras la DBPL la mortalidad es del 50% a los $25 \pm 17,5$ (rango, 14-56) días, sin diferencias significativas en el porcentaje de peso perdido entre los animales que sobrevivieron ($-38,9 \pm 14,2\%$) y los que fallecieron ($-29 \pm 5,6\%$; $p = 0,192$). El 80% de los animales que sobrevivieron perdieron peso progresivamente hasta alcanzar la máxima pérdida entre los 63 ($-42,3 \pm 8\%$) y 70 ($-44,1 \pm 9,7\%$) días. Un 20% de las ratas supervivientes perdieron peso hasta el día 35 y posteriormente recuperaron hasta un 7% el día del sacrificio (día 147).

Conclusiones. El modelo experimental de DBPL es técnicamente factible. La mortalidad y el porcentaje de peso perdido no se encuentran directamente relacionados. El mecanismo de adaptación intestinal justificaría la recuperación de peso de los animales operados.

Palabras clave: Derivación biliopancreática. Modelos experimentales. Cirugía bariátrica.

LARRAD BILIOPANCREATIC DIVERSION. DESCRIPTION OF AN RAT EXPERIMENTAL MODEL

Objective. To validate the experimental model of Larrad-biliopancreatic diversion (LBPV) and to analyze weight gain and mortality in rats fed with non-supplemented diets.

Material and method. Control (6) and experimental (10) male Wistar rats were used. The experimental group was operated on using the human LBPV adapted for rats: Subcardial gastrectomy, a short biliopancreatic channel created at 5 cm from Treitz angle and common channel at 5 cm from ileocecal valve. After surgery recovery (7 days) the rats were fed ad libitum with a standard non-supplemented diet (without proteins, minerals or vitamins). Percentage of weight lost or gained up to the end of the experiment was analyzed.

Results. The control animals gained weight progressively from $13.1 \pm 2.4\%$ at day 7 to $58 \pm 9.2\%$ at day 63, when the animals were sacrificed. After LBPV, mortality was 50% at day 25 ± 17.5 (range, 14-56), no significant differences in the percentage of weight lost being found between surviving ($-38.9 \pm 14.2\%$) and non-surviving rats ($-29 \pm 5.6\%$; $p = 0.192$). Of the surviving animals, 80% progressively lost weight reaching a maximum loss between day 63 ($-42.3 \pm 8\%$) and 70 ($-44.1 \pm 9.7\%$), and 20% lost weight until day 35 and gained over 7% of body weight until sacrifice (day 147).

Trabajo subvencionado por una Beca de Investigación de la Fundación Mutua Madrileña.

Correspondencia: Dr. A. Larrad Jiménez.
Rafael Bergamín, 12, ático C, escalera izquierda. 28043 Madrid.
España.
Correo electrónico: LARRAD@inicia.es

Manuscrito recibido el 18-6-2007 y aceptado el 6-11-2007.

Conclusions. An experimental model of LBPD in rats is technically feasible. Both mortality and percentage weight loss are not directly related. The bowel adaptation mechanism could mediate the percentage of weight regain in operated rats.

Key words: *Biliopancreatic diversion. Experimental models. Bariatric surgery.*

Introducción

No cabe ninguna duda de que la obesidad es en estos momentos una nueva epidemia. Más de 250 millones de personas la padecen en todo el mundo, y en España la prevalencia general de obesidad en la población adulta de 25 a 64 años se estima en un 15,5% de los que el 0,3% de los varones y el 0,9% de las mujeres presentan una obesidad mórbida (índice de masa corporal [IMC] > 40)¹. En este grupo de pacientes está internacionalmente admitido que el único tratamiento efectivo es la cirugía, y también se puede operar a los pacientes con obesidad de grado II o premórbida (IMC entre 35 y 39) que presenten comorbilidades mayores, fundamentalmente metabólicas y/o cardiovasculares².

Sin embargo, y aunque los resultados obtenidos son muy esperanzadores, la gran diversidad de modificaciones en los tres grupos principales de técnicas quirúrgicas (restrictivas, hipoabsortivas y mixtas) demuestra que no hay un adecuado fundamento fisiopatológico que permita diseñar la que se podría considerar más adecuada. Y ello muy probablemente se debe, por una parte, a las dificultades impuestas por la compleja etiopatogenia de la enfermedad y, por otra, a que los escasos modelos experimentales existentes, revisados recientemente por Sabench et al³, se han centrado más en el desarrollo y la resolución de problemas de técnica quirúrgica que en el análisis de los mecanismos fisiopatológicos (cerebrales, intestinales, tisulares y endocrinológicos) implicados en la pérdida de peso, en el mantenimiento del peso perdido o en la recuperación ponderal⁴.

En 1979, Scopinaro et al⁵ describieron en el perro la derivación biliopancreática; 20 años más tarde hay una importante experiencia clínica que demuestra que se trata de la técnica más efectiva para obtener una adecuada y mantenida pérdida de peso⁶. Sin embargo, la técnica presentaba un importante número de complicaciones, especialmente metabólicas, por lo que en 1989, previo estudio experimental en cerdos⁷, modificamos la técnica en un intento de reducir la principal secuela, la hipoproteinemia, alargando el canal alimentario. Por otra parte, Scopinaro también realizó diferentes modificaciones que finalmente le han llevado a proponer el último modelo, el "ad hoc stomach ad hoc alimentary limb"⁸, en el que también alargando el canal alimentario le permite obtener resultados prácticamente similares a los nuestros. Sin embargo, frente a la cada vez mayor preponderancia clínica de ambas técnicas, destaca el escaso conocimiento que tenemos sobre los factores que causan su mecanismo de acción a corto y largo plazo, motivo por el que diseñamos la realización del modelo en un animal de experimentación bien conocido en la investigación de la obesidad, la rata. En este trabajo comunicamos los aspectos técnicos del modelo y los primeros resul-

tados de la historia natural de supervivencia y de las modificaciones ponderales que produce la intervención.

Material y metodo

Siguiendo las normas éticas vigentes en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, se estudia un grupo control (6 animales) y otro experimental (10 animales) de ratas machos de la cepa Wistar con un peso inicial mayor de 300 g. Previa separación de los animales en cajas individuales y ayuno de 24 horas previas a la cirugía son intervenidos con anestesia inhalatoria con una mezcla de 3 partes de halotano y 8 de oxígeno a través de una laparotomía media. Se realiza una sección del yeyuno proximal a 5 cm del ángulo de Treitz anastomosándose primero el cabo proximal al íleon terminal a 5 cm de la válvula ileocecal terminolateralmente con una sutura de puntos sueltos con seda 000000 (6/0). Tras liberar las adherencias laxas del estómago al hígado se procede a realizar una gastrectomía subcardial, previa liberación y hemostasia de los vasos gastropiploicos, con sección gástrica mediante un disparo de Endo Ghia 30 de 3,5 mm (Multifire Auto Suture, Tyco Healthcare Spain SL) y sección duodenal subpilórica cerrando el cabo duodenal con un hemoclip Premium Surgiclip™, L-13-O (Auto Suture, Tyco Healthcare Spain SL). Anastomosis del cabo distal del yeyuno al estómago a nivel del ángulo formado por la línea de sección gástrica y la curvatura mayor con puntos sueltos de seda 000000 (6/0). De esta forma se crea un canal biliopancreático que comprende el duodeno y los 5 cm proximales del yeyuno, un canal común de 5 cm de íleon terminal y un canal alimentario largo que comprende la casi totalidad del intestino delgado (fig. 1); la intervención es el reflejo de la utilizada en el humano⁹.

Tras la intervención los animales se mantienen aislados durante 7 días con dieta exclusiva de agua con glucosa al 10%, adicionada de enrofloxacin (Baytril) (25 mg/kg) y meloxicam (Metacam) (1 mg/kg). A partir de la semana se alimentan ad libitum con una dieta estandar no suplementada de proteínas, minerales o vitaminas.

Se deja que todos los animales evolucionen espontáneamente y se los pesa semanalmente hasta la muerte espontánea o el sacrificio mediante decapitación antes de los 3 meses de la intervención al observarse claros signos de malnutrición (apatía, pérdida de movilidad, caída de pelo, hemorragias periorificiales), excepto un animal que progresivamente ganó peso. Las modificaciones ponderales se expresan como porcentaje de peso ganado o perdido y la media \pm desviación estándar. El estudio estadístico se realiza mediante la prueba de la t para muestras independientes o apareadas.

Resultados

El peso inicial de los animales control se ha cifrado en $263,9 \pm 15,8$ (rango, 236,6-284,6) g y el de la serie experimental en $438,2 \pm 90,4$ (rango, 320-586) g. Los animales control ganan peso progresivamente desde un $13,1 \pm 2,4\%$ al séptimo día hasta el $58,2 \pm 9,2\%$ en el día 63 del sacrificio. De los animales sometidos a derivación biliopancreática (DBP), 5 (50%) fallecen espontáneamente a los $25 \pm 17,5$ (rango, 14-56) días, con pérdidas ponderales estadísticamente no significativas con respecto a los animales que sobrevivieron ($-29,5 \pm 5,6\%$ en los fallecidos y $-38,9 \pm 14,2\%$ en los supervivientes; $p = 0,192$). De los 5 animales que sobrevivieron, 4 (80%) perdieron peso progresivamente y alcanzaron el máximo de pérdida ponderal entre los días 63 ($-42,3 \pm 8\%$) y 70 ($-44,1 \pm 9,7\%$); 1 (20%) animal del grupo superviviente pierde peso hasta el día 35 (-44%), a partir de ese momento comienza a ganar peso hasta alcanzar un 7% el día 147, en que se lo sacrificó. Los valores ponderales se resumen en la tabla 1.

Las heces de todos los animales eran líquidas o pastosas durante los primeros 15-20 días, y posteriormente se normalizaron.

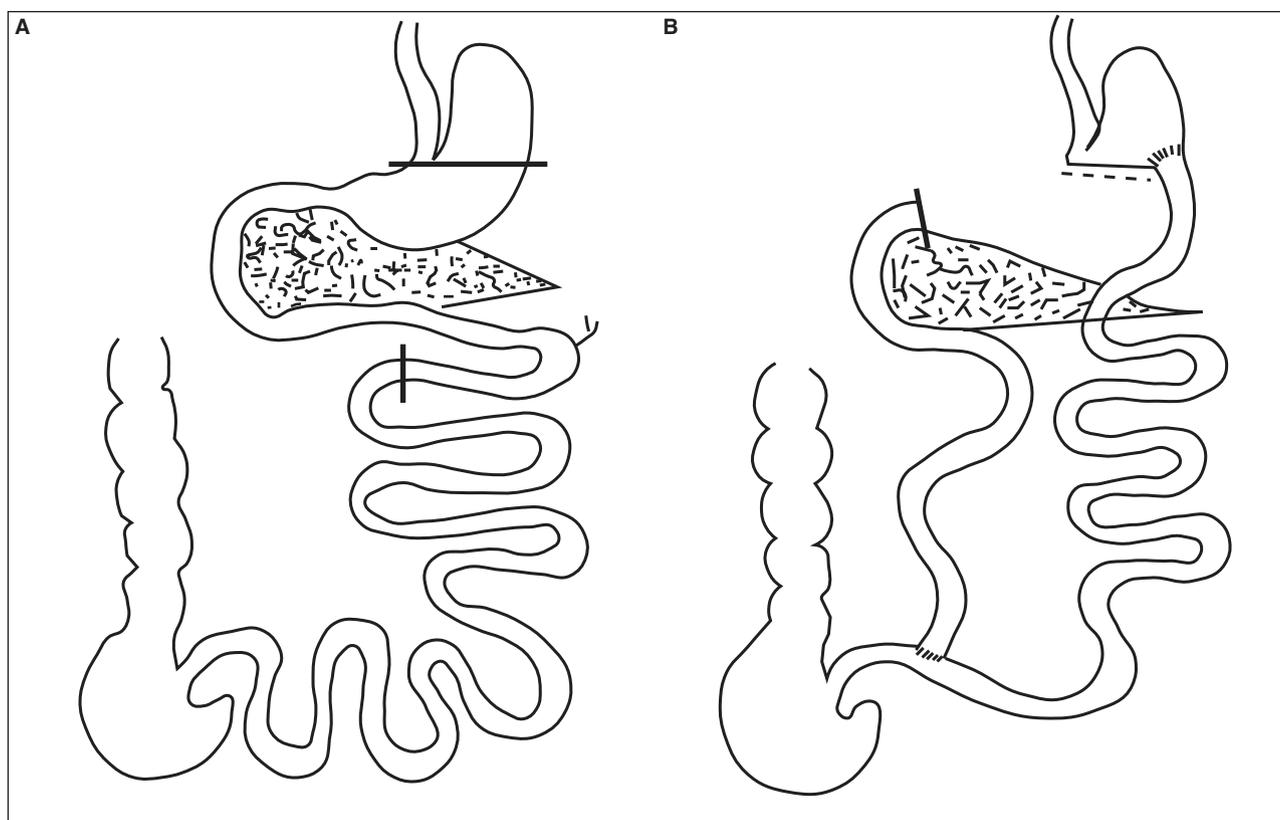


Fig. 1. A: esquema del intestino normal de la rata. Se indican las líneas de sección: gastrectomía subcardial, sección pospilórica y sección yeyunal a 5 cm del ángulo de Treitz. B: esquema de la derivación biliopancreática: gastroyeyunostomía a nivel de la unión de la línea de sección gástrica con la curvatura mayor. Cierre del muñón duodenal con una grapa. Yeyunoileostomía terminolateral a 5 cm de la válvula ileocecal.

TABLA 1. Comparación del porcentaje de peso perdido (PSP) o ganado en las ratas muertas espontáneamente y las sacrificadas

| Día | Muertas, PSP | Sacrificadas, PSP | Controles |
|-----|-----------------|-------------------|----------------|
| 7 | -18,6 ± 6,1 | -19,7 ± 4,5 (5) | 13,1 ± 2,4 (6) |
| 14 | -28,8 ± 8,4 (2) | -25,6 ± 3,7 | 20,2 ± 3,7 |
| 21 | -24 (1) | -27,8 ± 4,6 | 25,4 ± 7,4 |
| 28 | -31,5 (1) | -30,5 ± 7,6 | 38,5 ± 7,3 |
| 35 | -29,6 | -30,8 ± 7,7 | 42,6 ± 8 |
| 42 | | -31,7 ± 7,3 | 48 ± 6,9 |
| 49 | | -32,6 ± 9,4 | 52,3 ± 6,7 |
| 56 | -36,5 (1) | -34,6 ± 11,4 | 55 ± 7,6 |
| 63 | | -42,3 ± 8 (3) | 58 ± 9,2 (6) |
| 70 | | -44,1 ± 9,7 (2) | |
| 105 | | -26 (1) | |
| 119 | | -24,6 (1) | |
| 147 | | -39 (1) | |

En el grupo de animales sacrificados se ha excluido el animal que ganó peso. Entre paréntesis se indica el número de animales evaluados.

Discusión

Desde la introducción de la DBP por Scopinaro en 1979, ha quedado claramente demostrado que es la técnica más efectiva para perder peso y mantener dicha pérdida a largo plazo de las que dispone el arsenal quirúrgico para el tratamiento de la obesidad mórbida, y

comparte con otras basadas en la realización de una Y de Roux un porcentaje muy similar de complicaciones¹⁰. Sin embargo, los mecanismos que controlan su forma de actuar son muy poco conocidos, quizá como consecuencia, al igual que sucede con otras técnicas, de la carencia de modelos experimentales. Por ello, y tras confirmar en el humano la validez de la modificación que realizamos desde 1989^{9,11}, nos planteamos la necesidad de disponer de un modelo similar en un animal que permitiera profundizar en el conocimiento fisiopatológico de la nueva situación funcional así creada. Si bien inicialmente trabajamos en el mini-pig con el fin de aclarar algunos aspectos técnicos⁷, se hizo evidente las limitaciones de manipulación de los animales grandes, motivo por el que finalmente seleccionamos la rata. Este animal, aunque dificulta o limita los aspectos de técnica quirúrgica, ofrece claras ventajas, como un manejo más fácil, la posibilidad de disponer de resultados en cortos periodos, disponer de un amplio arsenal de técnicas de laboratorio para determinar los distintos factores implicados en la regulación del apetito y el metabolismo o disponer de animales específicos manipulados genéticamente para estudiar aspectos concretos.

Una vez solventados los problemas técnicos podemos aceptar que el modelo de DBP en la rata es técnicamente viable, relativamente fácil con una mínima experiencia en microcirugía y biológicamente factible, con una baja

mortalidad inducida por la intervención si se mantienen unos principios fundamentales de asepsia, cobertura antibiótica, analgesia y alimentación en el postoperatorio inmediato. Además, comparado con otros modelos como el mitad-mitad –sección del intestino delgado a la mitad de su longitud–, comunicado por Evrard et al¹², nuestro modelo ofrece una mayor supervivencia espontánea que la obtenida por esos autores, quienes han comunicado que de un grupo de 30 animales los 10 supervivientes fallecieron entre los días 40 y 62 del postoperatorio.

Hay que destacar que los animales que fallecieron espontáneamente no mostraron claras diferencias ponderales respecto a los que sobrevivieron, por lo que la causa de muerte no parece relacionarse con la cantidad de peso perdido ni con las características de las heces, similares en ambos grupos. De hecho, las características de las heces no parece que marquen, al menos durante las primeras 3 semanas, la posterior evolución de los animales.

El análisis de la historia ponderal de los animales intervenidos aporta resultados sumamente interesantes, pues se asemejan mucho a los resultados obtenidos en humanos. A corto plazo (20-35 días) la mitad de los animales operados fallecen con signos indicativos de malnutrición severa (caída de pelo, hemorragias oculares) lo cual es previsible si se tiene en cuenta que, en este período de máxima restricción de ingesta, la dieta no es suplementada en proteínas como, obligatoria y regularmente, se realiza en el humano. En la otra mitad de los animales que sobreviven a este primer período se produce una progresiva pérdida de peso hasta los 70 días, seguida de una estabilización o lenta pérdida ponderal hasta el momento de su sacrificio. Sin embargo, ha sido muy revelador observar que algunos animales (el 20% en este experimento) recuperan el peso perdido e inician una curva ponderal de lenta recuperación de peso. Esta ganancia ponderal en algunos animales se asemeja a los resultados obtenidos en humanos en los que, con técnicas hipoabsortivas, ya se había indicado esta posibilidad^{13,14}. Específicamente con la DBP, alrededor de un 25% de los pacientes ganan una cantidad variable de peso¹¹, cifra muy semejante a la obtenida en este grupo de animales.

Independientemente de las innumerables posibilidades de estudio que ofrece el modelo en los mecanismos que controlan el apetito, la saciedad o la regulación metabólica, estos primeros resultados en nuestro modelo ponen en evidencia la importancia de la investigación del mecanismo de adaptación intestinal, como ya lo propusieron Levi et al¹⁵ o Evrard et al^{12,16}, y su potencial regulación para intentar controlar la evolución de los pacientes operados con técnicas hipoabsortivas, pues parece que, como en el humano, se delimitan claramente 2 poblaciones de animales, los que mantendrán el peso perdido y los que lo ganarán nuevamente, cuyas características, posiblemente genéticas, habrá que analizar.

En resumen, y a pesar de la simplicidad de los objetivos de este primer experimento, podemos concluir que hemos desarrollado un modelo de DBP en la rata técnicamente factible, que reproduce resultados muy similares a los obtenidos en humanos, al menos desde el punto de vista ponderal, y que, debido a la buena supervivencia de

gran parte de los animales, permite abrir una larga línea de investigación sobre los mecanismos neuroendocrinos y metabólicos de control del apetito y peso, sobre los fundamentos fisiopatológicos que controlan el mecanismo de acción de la intervención, así como sobre los fenómenos de adaptación intestinal que pueden condicionar el éxito o el fracaso de la intervención en un grupo de pacientes que pueden estar sometidos a una respuesta genética diferente.

Agradecimientos

A Dña. Soledad del Río y a la Empresa Conidien por la ayuda prestada para la realización de este trabajo.

Bibliografía

1. Salas-Salvadó J, Rubio MA, Barbany M, Moreno B y Grupo Colaborativo de SEEDO. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc)*. 2007;125:184-96.
2. Rubio MA, Martínez C, Vidal O, Larrad A, Salas-Salvadó J, Pujol J, et al. Documento de consenso sobre cirugía bariátrica. *Rev Esp Obes*. 2004;4:223-49.
3. Sabench F, Hernández M, Blanco S, del Castillo D. Cirugía experimental y obesidad mórbida. *Cir Esp*. 2004;75:56-63.
4. Greenway FL, Greenway SE, Raum WJ. The physiology of the brain, the gut, and the fat cells. In the morbidly obese. En: Martin LF, editor. *Obesity surgery*. New York: McGraw-Hill; 2004. p. 49-65.
5. Scopinaro N, Gianetta E, Civaleri D, Bonalumi U, Bachi B. Biliopancreatic bypass for obesity: I. An experimental study in dogs. *Br J Surg*. 1979;66:613-7.
6. Scopinaro N, Adami GF, Marinari GM, Traversa E, Papadia F, Camerini G. Biliopancreatic diversion: two decades of experience. En: Deitel M y Cowan GSM, editores. *Update: Surgery for the morbidly obese patient*. Toronto: FD-Communications; 2000. p. 227-58.
7. Monturiol A, Larrad A, García Rosa A, Moreno Mata N, Gonzalez A, Meyer-Beeck D. Estudio experimental comparativo del efecto adelgazante de la derivación pancreática aislada y biliopancreática. *Cir Esp*. 1995;58 Supl 1:120.
8. Marinari GM, Murelli F, Camerini G, Papadia F, Carlini F, Stabili C, et al. A 15-year evaluation of biliopancreatic diversion according to the bariatric analysis reporting outcome system (BAROS). *Obes Surg*. 2004;14:325-8.
9. Sánchez-Cabezudo C, Larrad-Jiménez A, Ramos García I, Moreno Esteban B. Resultados a 5 años de la derivación biliopancreática de Larrad en el tratamiento de la obesidad mórbida. *Cir Esp*. 2001;70:133-41.
10. Mauri S, Aguilari R, Ruiz B, Pibernat AM, Salleras N, Pons N, et al. Complicaciones nutricionales después del tratamiento quirúrgico de la obesidad. ¿Qué ocurre en el bypass gástrico? *Endocrinol Nutr*. 2007;54:193-9.
11. Larrad-Jiménez A, Sánchez-Cabezudo Díaz-Guerra C, de Quadros Borrajo P, Bretón Lesmes I, Moreno Esteban B. Short-, mid-, and long-term results of Larrad biliopancreatic diversion. *Obes Surg*. 2007;17:202-10.
12. Evrard S, Aprahamian M, Loza E, Guerrico M, Marescaux J, Damgé C. Malnutrition and body weight loss alter biliopancreatic bypass in the rat. *Int J Obes*. 1991;15:51-8.
13. García Díaz S, Pera Madrazo C, Loscertales Abril J, Arevalo Jiménez E. Cirugía de la obesidad. En: Pera C, editor. *Avances en cirugía*. Vol 2. Barcelona: Salvat; 1978. p. 209-24.
14. Jorgensen S, Olesen M, Gudman-Hoyer E. A review of 20 years of jejunoileal bypass. *Scand J Gastroenterol*. 1997;32:334-9.
15. Levi AC, Borghi F, Cetrino R, Bargoni A, Fronticelli CM, Gentili S. Modifications of the trophism of intestinal mucosa alter intestinal and BPD in the rat. *Int J Gastroenterol*. 1991;23:202-7.
16. Evrard S, Aprahamian M, Hoeltzel A, Vasilescu M, Marescaux J, Damgé C. Trophic and enzymatic adaptation of the intestine to biliopancreatic bypass in the rat. *Int J Obes*. 1993;17:541-7.