REVISTA ESPAÑOLA DE FISIOLOGIA, 42 (2), 191-198. 1986

Efectos de la hepatectomía parcial sobre algunos parámetros sanguíneos y hepáticos en la trucha arco iris (*Salmo gairdnerii*, Rich.)

M. C. Hidalgo, M. García, G. Cardenete, A. Sanz y M. de la Higuera *

Departamento de Fisiología Animal
Facultad de Ciencias
18071 Granada (España)

(Recibido el 29 de abril de 1985)

M. C. HIDALGO, M. GARCIA, G. CARDENETE, A. SANZ and M. DE LA HIGUERA. *Effects of Partial Hepatectomy on Some Parameters of Blood and Liver in Rainbow Trout (*Salmo gairdneril, *Rich.)*. Rev. esp. Fisiol., 42 (2), 191-198. 1986.

After 36 % of hepatic mass remotion, rainbow trout recovered its initial liver weight in 20-30 days, i.e., with a regeneration rate clearly lower than in mammals. During early regeneration process hematocrit index and hemoglobin content were slightly decreased, but both parameters rapidly reached their normal values, The evolution of both glycaemia and hepatic glycogen content supported the idea of the existence of a late regeneration wave, which, in this case, could begin at about the 20th post-operative day.

Key words: Hepatectomy, Trout, Blood parameters, Hepatic glycogen.

No son muy conocidos los mecanismos implicados en el funcionalismo hepático en peces; las evidencias disponibles coinciden en suponer las mismas funciones básicas que en vertebrados superiores, aunque numerosos indicios ponen de manifiesto la existencia de ciertas peculiaridades funcionales, sobre todo en lo que a su papel en el metabolismo de los hidratos de carbono se refiere (1, 15, 16), que lo convierten en un tema de investigación de máximo interés.

Uno de los procedimientos clásicos en Fisiología, cuando se aborda el estudio del funcionamiento de un órgano o de su papel en un determinado proceso, es proceder a su extirpación parcial o total, física o funcional, y a un seguimiento meticuloso de las repercusiones de tal maniobra.

La hepatectomía parcial en peces ha sido aún poco utilizada, sin duda por las dificultades técnicas que conlleva. No obstante, trabajos previos en trucha arco iris (17, 23) han permitido diseñar una técnica lo suficientemente eficaz como para iniciar estudios sobre los diversos efectos que tal manipulación provoca. El objetivo de este trabajo es evaluar el estado fisiológico global, tras la resección parcial del hígado en la trucha, de algunos parámetros indicativos del metabolismo de los hidratos de carbono en estas condiciones.

* A quien debe dirigirse la correspondencia.

Material y Métodos

Se han utilizado truchas arco iris *(Salmo gairdnerii)* de un peso medio inicial de 128 g, procedentes de piscifactoría, e instaladas en laboratorio, en cubas de plástico transparente (120×60×50 cm), abastecidas con agua declorada y aireada adecuadamente, que se cambió al menos cada 24 h. La temperatura se mantuvo a 14 ± 1°C.

Diseño experimental. Tres grupos de 30 truchas cada uno constituyen los tres lotes experimentales base de este trabajo: HPX: truchas a las que se extirpó, como media, un 36% de su masa hepática (36,08 ± 0,99). SH: truchas sometidas a las mismas manipulaciones quirúrgicas que el grupo anterior, pero sin extirpación de masa hepática. C: animales intactos.

La alimentación se realizó con una dieta comercial para truchas, suministrada *ad libitum* al lote HPX una vez al día, siendo restringida la de los otros dos, de forma que la ingesta diaria por unidad de peso corporal fuera similar en los tres lotes *(pair fed)*.

El período experimental duró 30 días, subdividido en 6 subperíodos correspondientes a los días 0, 3, 6, 10, 15, 22 y 30.

El día 0, además de realizar la manipulación quirúrgica de los lotes HPX y SH, se sacrificó un grupo adicional de 5 truchas, C0, usándose sus datos como referencia inicial para los otros tres grupos. En cada uno de los subperíodos se muestrearon 5 animales de cada grupo, realizándose los siguientes controles: ingesta, evolución de peso corporal, evolución de peso de hígado, contenido de agua y glucógeno en el hígado, y evolución de parámetros sanguíneos (valor hematocrito, contenido en hemoglobina y glucosa).

Los animales de los lotes HPX y SH se marcaron individualmente mediante cortes en las distintas aletas.

La tasa de regeneración hepática se evaluó indirectamente, comparando la relación hepatosomática (peso hígado/peso trucha, expresado en %) de las truchas hepatectomizadas con una RHS teórica obtenida de la ecuación de una recta de regresión, determinada a partir de los pesos de hígado y de trucha entera de los animales pseudohepatectomizados y controles ($y = 0{,}00947x + 0{,}20448$, $r = 0{,}7539$, $p < 0{,}001$, $n = 66$).

Procedimiento quirúrgico. El aplicado a los grupos HPX y SH se ha descrito anteriormente (17), siendo la única diferencia el porcentaje de hepatectomía realizado.

Técnicas analíticas. En sangre (obtenida por punción de la vena caudal), se ha determinado el hematocrito por centrifugación durante 5 min en microcapilares heparinizados. La hemoglobina, por el método colorimétrico de la cianmetahemoglobina (3); en suero, la glucosa por el método colorimétrico GOD-Perid. En hígado, el glucógeno (11) y la humedad en estufa a 105 ± 1°C hasta peso constante, determinada en *pools* compuestos por trozos de hígado de las truchas de cada muestra, en cada período, siendo la aportación de cada una proporcional al tamaño inicial del hígado extraído.

Tratamiento estadístico. En todos los casos en los que ha sido preciso valorar la significación de la diferencia entre dos medias muestrales se ha recurrido al test de la t de Student. El test de la recta de regresión se ha aplicado para la correlación entre el peso corporal y el del hígado.

Tabla I. *Evolución de la relación hepatosomática (%) en truchas hepatectomizadas.* Los resultados son media ± E.S. de 5 animales.

Períodos	Días	Tejido fresco		Tejido seco	
		Teórica	Real	Teórica	Real
1	0-3	1,13 ± 0,02	0,77 ± 0,04	0,27 ± 0,01	0,17 ± 0,01
2	0-6	1,22 ± 0,01	0,87 ± 0,07	0,28 ± 0,01	0,20 ± 0,02
3	0-10	1,15 ± 0,03	1,01 ± 0,10	0,28 ± 0,01	0,23 ± 0,02
4	0-15	1,14 ± 0,02	1,06 ± 0,11	0,28 ± 0,01	0,25 ± 0,03
5	0-22	1,12 ± 0,02	1,05 ± 0,10	0,28 ± 0,01	0,24 ± 0,02
6	0-30	1,09 ± 0,01	1,21 ± 0,08	0,27 ± 0,01	0,28 ± 0,02

Resultados

La relación hepatosomática de las truchas HPX va aumentando gradualmente (tabla I), de tal forma que, durante el segundo período tras hepatectomía, desaparecen las diferencias significativas con respecto a la relación hepatosomática teórica de los lotes SH y C, aunque sólo se iguala con la misma durante el último período (22-30 días), llegando al final a sobrepasarla.

Al representar las RHS (real y teórica) calculadas a partir del peso seco de los hígados, se observa que las diferencias entre ambas se mantienen en los mismos períodos, excepto en el último, en que desaparecen.

La ingesta de las truchas HPX, expresada en % de su peso corporal diario, tras el primer período después de la resección hepática, en que se encuentra disminuida, se recupera rápidamente, y ya en el segundo período se alcanzan unos valores que luego se mantendrán, aunque con las oscilaciones típicas, a lo largo de todo el período experimental (fig. 1).

La ganancia de peso, expresada en % con respecto al peso inicial de la misma trucha, sigue una evolución semejante en los lotes SH y HPX. Tras una disminución significativa para HPX ($p < 0,001$) y para SH ($p < 0,01$) en el primer período después de hepatectomía parcial, se observa una tendencia hacia la recuperación de dicho parámetro, existiendo una ganancia real de peso en ambos lotes al final del período experimental (HPX: $p < 0,001$ y SH: $p < 0,01$) (tabla II).

La cantidad de hemoglobina y el valor hematocrito en los animales hepatectomizados (tabla III) muestran unos valores netamente inferiores a aquellos presentados por el lote control intacto, de tal forma que al final del período experimental siguen existiendo diferencias sig-

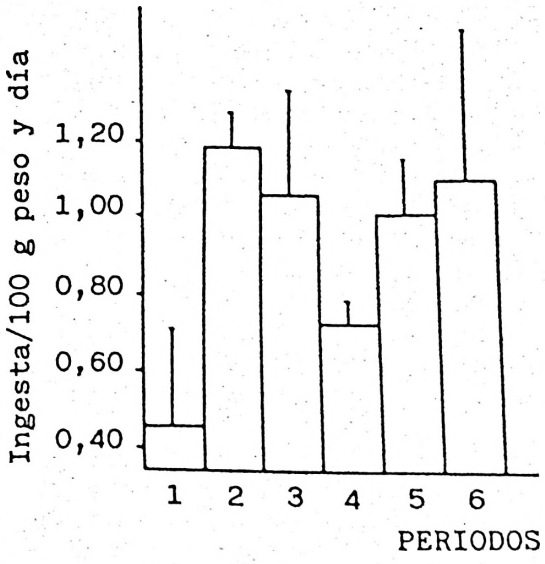

Fig. 1. *Evolución de la ingesta a lo largo del experimento.*

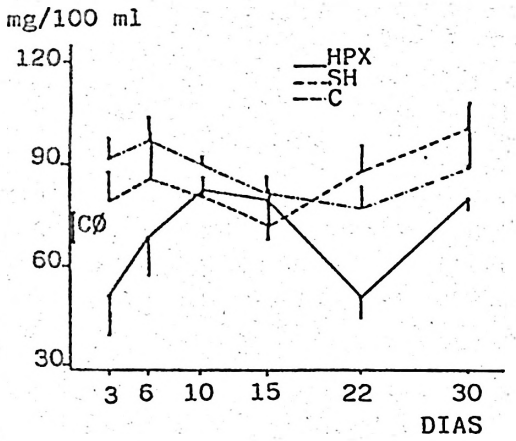

Fig. 2. *Evolución de la glucemia en los grupos de truchas hepatectomizadas (HPX), seudohepatectomizadas (SH) y controles (C) con respecto al grupo de referencia (C0).*

nificativas ($p < 0,05$). Por otra parte, en los animales SH ambos parámetros se encuentran, en líneas generales, por encima de los valores encontrados en truchas HPX y por debajo de aquellos presentes en animales C. De cualquier forma, al final del período experimental no se hallan diferencias estadísticamente significativas entre los lotes C y SH.

Por último, los valores encontrados, tanto al determinar la cantidad de hemoglobina como el valor hematocrito en los animales controles, son muy similares a aquellos existentes en los animales que componen el grupo de referencia C0.

Al observar los resultados obtenidos de glucosa plasmática (fig. 2) en los animales parcialmente hepatectomizados, se encuentra una reducción, estadísticamente significativa ($p < 0,05$), en los niveles de dicho metabolito en el primer período tras hepatectomía, con respecto a los controles intactos. Esta hipoglucemia tiende a desaparecer, confundiéndose los valores con los presentados por los otros dos lotes (SH y C) a partir del décimo día postoperatorio, para aparecer nuevamente en el quinto período (con un nivel de

Tabla II. *Evolución ponderal (%) de truchas hepatectomizadas (HPX) y seudohepatectomizadas (SH).*
Los datos de cada periodo corresponden a la media ± E.S. de 5 animales.

Periodos	Días	HPX	SH
1	0-3	—7,29±1,45	—5,95±2,81
2	0-6	—2,85±4,93	0,46±6,08
3	0-10	—3,48±3,93	—1,45±2,81
4	0-15	2,58±4,75	—3,63±2,45
5	0-22	—0,18±5,67	—3,41±5,73
6	0-30	11,40±3,96	8,67±4,07

significación de $p < 0,005$). A continuación los niveles de glucosa aumentan, igualándose con los pertenecientes a los lotes SH y C al final del período experimental.

Los niveles de glucógeno hepático (figura 3) se muestran significativamente disminuidos ($p < 0,05$) en los tres lotes de animales, con respecto al grupo de referencia, observándose una tendencia general a la recuperación, interrumpida

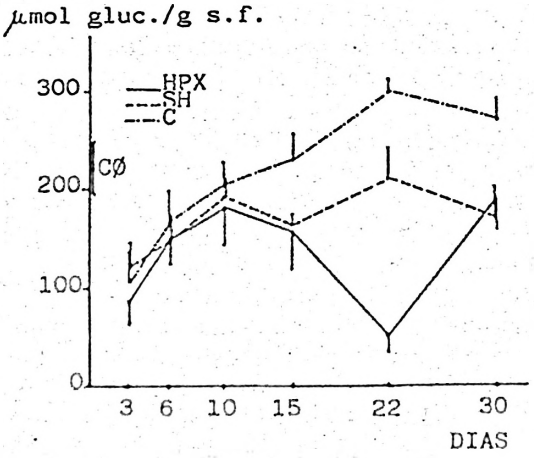

Fig. 3. *Evolución del contenido de glucógeno hepático en los grupos de truchas hepatectomizadas (HPX), seudohepatectomizadas (SH) y controles (C) con respecto al grupo de referencia (C0).*

Tabla III. *Evolución del contenido de hemoglobina y del valor hematocrito en los lotes de truchas hepatectomizadas (HPX), seudohepatectomizadas (SH) y controles (C).* Los datos de cada período corresponden a la media ± E.S. de 5 animales.

Períodos	Días	Contenido de hemoglobina (g/100 ml)			Valor hematocrito (%)		
		HPX	SH	C	HPX	SH	C
1	0-3	6,6 ± 0,9	5,2 ± 1,3	9,5 ± 0,7	27,3 ± 10,1	30,3 ± 5,9	36,2 ± 1,6
2	0-6	5,1 ± 1,1	6,2 ± 0,9	7,0 ± 1,1	27,8 ± 2,2	32,2 ± 3,1	34,7 ± 2,6
3	0-10	6,4 ± 0,7	8,1 ± 0,9	7,7 ± 0,5	31,0 ± 2,3	39,9 ± 3,6	31,1 ± 2,1
4	0-15	6,3 ± 0,8	5,0 ± 0,9	7,7 ± 0,5	35,4 ± 3,6	33,1 ± 3,3	39,7 ± 1,9
5	0-22	5,4 ± 0,9	7,3 ± 0,2	8,2 ± 0,8	26,4 ± 6,2	30,6 ± 1,5	40,4 ± 2,5
6	0-30	4,3 ± 0,4	7,1 ± 0,4	7,8 ± 1,2	27,5 ± 2,7	34,8 ± 2,4	44,1 ± 4,9
		Grupo de referencia: 7,3 ± 0,5			Grupo de referencia: 40,5 ± 6,3		

en el caso del lote HPX durante el quinto período, en el que los valores de glucógeno descienden significativamente ($p < 0,01$). Posteriormente, la cantidad de glucógeno aumenta en estos animales (parcialmente hepatectomizados) hasta alcanzar los valores normales al final del período experimental.

Discusión

La técnica quirúrgica empleada se ha revelado eficaz, de forma que ha permitido una extirpación media superior a 1/3 de la masa hepática total, sin que el índice de mortalidad tras la operación llegue al 3 %. El tratamiento con antibiótico y fungicida ha resultado asimismo de gran eficacia, de forma tal que lo conseguido, junto a experiencias anteriores (17, 18), permite considerar la técnica empleada como totalmente apropiada para el estudio, de forma directa, de las repercusiones de tal manipulación, así como, indirectamente, de cualquier otro aspecto de la fisiología hepática.

La regeneración hepática, considerada desde el punto de vista del peso del hígado, se puede dar por finalizada en el período comprendido entre los 22 y los 30 días tras la resección del 36 % del mismo. Al final del período experimental, el hecho de que la RHS de los animales HPX sobrepase ligeramente a la correspondiente control, no se debe a una hiperregeneración sino al acúmulo de agua en los hígados regenerados (tabla I). Estos resultados básicamente coinciden con los obtenidos por varios autores (10, 12, 23) que, en definitiva, vienen a afirmar la lentitud del proceso regenerativo tras la extirpación parcial del hígado en los peces, ne relación con lo que ocurre en mamíferos como la rata.

Las ganancias de peso presentadas por los animales operados (SH y HPX) (tabla II), no se pueden considerar satisfactorias ya que, de hecho, sólo las truchas sacrificadas el último día del experimento muestran un crecimiento neto y claro. Esto es debido fundamentalmente a que la ingesta, aunque se recupera rápidamente y se aproxima a los valores considerados como normales en laboratorio (1,5 % peso corporal/día), dista aún de la óptima correspondiente al régimen de piscifactoría (2-3 % peso corporal/día). Otra explicación radica en que, como consecuencia de los cambios hormonales inducidos por el estrés postoperatorio (20), el catabolismo proteico se halla no-

tablemente incrementado, como lo demuestra la elevada excreción de amoniaco encontrada en truchas parcialmente hepatectomizadas (17).

La reducción de las constantes eritrocitarias (valor hematocrito y cantidad de hemoglobina) en los animales operados (SH y HPX) (tabla III) vendría explicada en parte por la situación de estrés postoperatorio. En este sentido, varios autores (5, 8, 9) encuentran una caída en los niveles de hemoglobina y en el valor hematocrito en peces sometidos a estrés de distinta naturaleza, asociada a un engrosamiento del bazo. Este hecho también ha sido observado en estos ensayos, aunque no constatado numéricamente, y podría ser consecuencia de una respuesta hematopoyética de este órgano a la pérdida de sangre por la manipulación quirúrgica, ya que en los peces la capacidad hematopoyética del bazo persiste más tiempo que en mamíferos (4). Al final del período experimental los valores de dichas constantes, se aproximan a los del lote control sólo en animales SH, debido quizás a un mayor grado de estrés (sobre todo del componente hemorrágico), y/o por la implicación de otros factores como una deficiencia aminoacídica para la síntesis de la molécula proteica de hemoglobina, originada por el aumento en los requerimientos de aminoácidos para la síntesis de nuevas estructuras celulares implicadas en el proceso regenerativo (6). Otra hipótesis sería que existiera una dificultad del hígado en estas condiciones en sintetizar la proteína transportadora del hierro, ya que se ha encontrado una disminución en los niveles séricos de proteínas tras hepatectomía (19), entre las que se podría encontrar la transferrina.

Sin embargo, pese a la disminución en las constantes eritrocitarias encontrada en los animales HPX durante el período experimental, dichas constantes no alcanzan valores que puedan considerarse como anormales o no idóneos (14) y por tanto repercutir desfavorablemente sobre el estado fisiológico global del animal.

Por lo que respecta a los resultados obtenidos al determinar glucosa sanguínea (fig. 2), la caída de dichos niveles en truchas HPX durante los 6 primeros días tras la resección parcial del hígado, se atribuiría tanto a una disminución en la capacidad gluconeogénica global de dicho órgano, como a un decremento de los depósitos absolutos de glucógeno y, por tanto, de la capacidad proveedora de glucosa al torrente sanguíneo, todo ello motivado por la falta física de tejido hepático resultante de dicha manipulación quirúrgica. A ello se podría sumar el incremento en la glucólisis, indispensable para satisfacer en parte los requerimientos en metabolitos y energía necesarios para el proceso regenerativo, hecho que ha sido puesto de manifiesto por HAUG *et al.* (6) en la rata, tras hepatectomía parcial.

Se ha de destacar que la hiperglucemia que cabría esperar, inducida por acción de las catecolaminas liberadas durante el estrés (13) y que promueven un incremento en la glucogenólisis hepática y muscular (7, 21, 22) es pasajera (10) y, posiblemente, debido a ello pasa inadvertida en las determinaciones realizadas, ya que se comenzaron en el tercer día postoperatorio.

Los valores de glucosa sanguínea en truchas HPX, a partir del décimo día postoperatorio, se acercan a la normalidad y, sorprendentemente, en el día 22 vuelven a caer. Para explicar este hecho, no se descarta la hipótesis de que el nuevo impulso de actividad regeneradora, puesta de manifiesto por el incremento en la cantidad de ADN de los hígados de trucha en regeneración durante este período de tiempo, seguido por un incremento en la RHS (18), implique la utilización de sustratos aminoacídicos para la síntesis de nuevos componentes celulares, lo que provocaría una disminución en la gluconeogénesis que, junto con el

aumento en la glucólisis, motiva la caída de la glucosa sanguínea. El hecho de que en estas condiciones estuviese disminuida la actividad gluconeogénica viene apoyado por lo expuesto por COWEY *et al.* (2), en el sentido de que la regulación de la gluconeogénesis en peces depende fundamentalmente de la disponibilidad de sustrato.

Por lo que se refiere al contenido de glucógeno hepático, la depleción inicial del mismo, observada en los tres lotes de animales, vendría motivada por el estrés de pesada previo al comienzo del experimento, con la consiguiente liberación de catecolaminas y ruptura de los depósitos de glucógeno, que provocaría, como se ha comentado anteriormente, una hiperglucemia pasajera. Esto, unido a la ingesta inicialmente baja, haría que la restauración de dichos depósitos se realice de una forma lenta y, por tanto, detectable en las determinaciones. A partir del décimo día postoperatorio los depósitos de glucógeno hepático en truchas HPX, vuelven a disminuir, disminución que coincide con la presentada por la glucosa sanguínea y para la cual se encuentra la misma explicación, es decir, una disminución en la capacidad gluconeogénica provocada por la menor disponibilidad de aminoácidos durante el nuevo impulso de regeneración.

Resumen

La resección del 36 % de la masa hepática en la trucha va seguida de un proceso de regeneración que ocupa entre 20 y 30 días, lo que significa una tasa de regeneración claramente inferior a la de mamíferos. Durante este período las constantes eritrocitarias, inicialmente deprimidas, se recuperan rápidamente, no alcanzando nunca valores significativamente alejados de las condiciones normales. La evolución de la glucemia y de los depósitos hepáticos de glucógeno abundan en la idea de la existencia de una onda tardía de regeneración que, en este caso, se produciría alrededor del día 20 tras la operación.

Bibliografía

1. Cowey, C. B., Adron, J. W., Brown, D. A. y Shanks, A. M.: *Br. J. Nutr.*, 32, 219-231, 1975.
2. Cowey, C. B., Knox, D., Walton, M. J. y Adron, J. W.: *Br. J. Nutr.*, 38, 463-470, 1977.
3. Drabkin, D. L.: *Am. J. Med. Sc.*, 217, 710-712, 1949.
4. Ghittino, P.: «Tecnologia e Patologia en Acquacultura» (2.ª edic.). Rivista di Zootecnia, Milán, 1983.
5. Hatting, J. y Pletzen, A. J. J.: *Comp. Biochem. Physiol.*, 49A, 607-609, 1974.
6. Haug, H., Schaum, W., Strik, W. y Roweck, H.: *Acta Hepato-Gastroenterol.*, 20, 467-483, 1973.
7. Hayashi, S. y Ooshiro, Z.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 41, 201-208, 1975.
8. Houston, A. H. y Dewilde, M. A.: *Comp. Biochem. Physiol.*, 28, 877-885, 1969.
9. Ikeda, Y., Ozaki, H. y Uemitsu, K.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 41, 803-811, 1975.
10. Inui, Y., Arai, S. y Yokote, M.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 41, 1105-1111, 1975.
11. Keppler, D. y Decker, K.: En «Methods of enzymatic analysis» (Bergmeyer, H. U., ed.) (2.ª edic.), .vol. 3, Academic Press, Londres, 1974, 1125-1131.
12. Larsen, L. O.: *Gen. Comp. Endocr.*, 35, 197-204, 1978.
13. Mazeaud, M.: *C. r. Séanc. Soc. Biol.*, 163, 349-352, 1964.
14. McCarthy, D. H., Stevenson, J. P. y Roberts, M. S.: *J. Fish Biol.*, 7, 215-219, 1975.
15. Palmer, T. N. y Ryman, B. E.: *J. Fish Biol.*, 4, 311-319, 1972.
16. Refstie, T. y Austreng, E.: *Aquaculture*, 25, 35-49, 1981.

17. Sanz, A., García, M., Cardenete, G. y Zamora, S.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **71A**, 329-332, 1982.

18. Sanz, A., García, M., Cardenete, G. y Zamora, S.: *XIX Congreso de la S.E.C.F.*, Málaga, 1982, Abst. n.° 26.

19. Sanz, A., Hidalgo, M. C., Cardenete, G., García, M. y De la Higuera, M.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **83A**, 213-215, 1986.

20. Singley, J. A. y Chavin, W.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **51A**, 749-756, 1975.

21. Umminger, B. L. y Benzinger, D.: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **25**, 96-104, 1975.

22. Umminger, B. L. y Gist, D. H.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **44A**, 967-977, 1973.

23. Wunder, W.: *Zool. Anz., Jena*, **196**, 357-383, 1976.