

Efecto de diferentes factores tróficos sobre la traslocación bacteriana en el síndrome de intestino corto experimental*

I. Eizaguirre¹, P. Aldazabal², N. García², I. Orgiles², J.M. García-Arenzana³, C. Ariz⁴, J.A. Tovar⁵, S. Candelas⁵

¹Servicio de Cirugía Pediátrica, ²Unidad Experimental, ³Microbiología y ⁴Farmacología, Hospital Aranzazu, Complejo Hospitalario Donostia, Osakidetza, San Sebastian y Departamento de Cirugía Pediátrica, ⁵Hospital Infantil La Paz, Madrid

RESUMEN: La traslocación bacteriana (TB) es frecuente tras la resección intestinal masiva, y una de las causas de mortalidad por sepsis en niños con síndrome de intestino corto (SIC). Aunque diversos factores tróficos han demostrado tener una acción positiva en el proceso de adaptación intestinal, su efecto sobre la TB en el intestino corto experimental no ha sido aún investigado.

El objeto de este estudio es poner a prueba la hipótesis de que la administración de hormona de crecimiento (GH), factor de crecimiento epidérmico (EGF) o insulina (INS) disminuyen la TB en el intestino corto en ratas bajo nutrición parenteral (NP).

A 37 ratas Wistar adultas se les colocó un catéter venoso central seguido de resección del 80% del intestino delgado incluyendo ciego y válvula ileocecal por anastomosis ileo-cólica término-terminal y se les asignó aleatoriamente a uno de los cuatro grupos siguientes:

- Grupo NP (N=10): NP (300mL/kg/24h, 280 kcal/kg/24h),
- Grupo GH (N=9): NP y 1 mg/kg/d subcutáneo de GH.
- Grupo EGF (N=9): NP y EGF (150 microgr/24h, e.v.)
- Grupo INS (N=9): NP e insulina s.c. (1 U.I./100kg/24h)

Los animales fueron sacrificados mediante sangría tras diez días de evolución y se obtuvieron y cultivaron muestras de los ganglios linfáticos mesentéricos, sangre portal y sangre periférica. Se procesaron asimismo varios cortes de intestino para estudiar la proliferación celular (antígeno de proliferación celular nuclear, PCNA) y parámetros morfológicos (altura de las vellosidades, profundidad de las criptas).

Los grupos GH, EGF e INS mostraron un aumento del 30%, 28% y 29% en el espesor de la mucosa y el índice de PCNA creció un 21%, 20% y 25% en relación al grupo NP. Crecieron gérmenes entéricos aerobios (*E. Coli*, *Proteus* o *Klebsiella*) en ganglios mesentéricos o sangre portal en el 60% de los animales del grupo NP, EGF e INS, y en 8/9 (89%) del grupo GH ($p=0,07$). Sin embargo, en sangre periférica no hubo TB en el grupo NP, mientras que en los demás fue del 44%, 40% y 28%, respectivamente ($P<0,05$ vs grupo NP).

Estos resultados confirman que la administración de factores tróficos como GH, EGF o insulina mejoran la estructura de la pared intestinal en ratas con SIC bajo NP, pero, sorprendentemente, la incidencia de TB aumentó en los animales que fueron tratados con GH, EGF o insulina.

PALABRAS CLAVE: Traslocación Bacteriana; Hormona de Crecimiento; Factor de crecimiento epidérmico; Insulina; Intestino corto; Nutrición Parenteral; Ratas Wistar.

Correspondencia: I. Eizaguirre, Pza. del Deporte 8, 3º, 20009 San Sebastián, E.mail: ieizagui@chdo.osakidetza.net.

*Trabajo realizado parcialmente con una beca de la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral (SENPE).

EFFECT OF TROPHIC FACTORS ON BACTERIAL TRANSLOCATION IN EXPERIMENTAL SHORT BOWEL SYNDROME

ABSTRACT: Massive bowel resection triggers an adaptive process in the remaining intestine in spite of which, bacterial translocation (BT) is frequent under these conditions. Several trophic factors, including growth hormone (GH), epidermal growth factor (EGF) and insulin (INS) are involved in the process of adaptation in short bowel syndrome (SBS). However, the effect of GH, EGF or INS on BT has not been investigated experimentally.

The aim of the study was to test the hypothesis that GH, EGF or INS administration prevents BT in rats with SBS receiving only parenteral nutrition (PN).

Thirty-seven adult Wistar rats underwent central venous cannulation and were randomly assigned to one of two groups receiving for ten days four treatment regimes:

- PN group (N=10) fasting, all-in-one PN solution (300mL/kg/24h, 280 kcal/kg/24h), 80% gut resection including ileo-cecal valve.
- GH group (N=9) fasting, same PN regime and resection plus GH (1 mg/kg/d, s.c.).
- EGF group (N=9): same PN regime and resection plus EGF (150 microgr/24h, e.v.)
- INS group (N=9): same PN regime and resection plus INS (1 U.I./100g/24h s.c.)

At the end of the experiment the rats were exanguinated and mesenteric lymph nodes and samples of systemic and portal blood were obtained and cultured. Several samples of full-thickness jejunal wall were taken for measuring cell proliferation index (PCNA) and mucosal thickness.

Jejunal mucosal thickness increased by 30%, 28% and 29% and PCNA index by 21%, 20% and 25% in GH, EGF and INS, treated rats respectively in comparison with those treated with PN alone. However, contrary to our expectations, BT expressed by positive culture of intestinal germs in systemic blood was demonstrated respectively in 44%, 40% and 28% of GH, EGF and INS animals, respectively, and in 0% of PN-only rats

Although exogenous GH, EGF or INS improves gut mucosal structure in rats with SBS treated with PN, it seems to increase rather than decrease mucosal permeability to intestinal germs in them.

KEY WORDS: Bacterial Translocation; Growth Hormone; Epidermal Growth Factor; Insulin; Short Bowel Syndrome; Parenteral Nutrition; Wistar Rats.

INTRODUCCIÓN

La traslocación bacteriana (TB) es frecuente en pacientes con síndrome de intestino corto (SIC) y la nutrición parenteral (PN), tan necesaria para su manejo, la favorece. Los gérmenes atraviesan la pared intestinal y pasan a los ganglios linfáticos mesentéricos o al hígado a través de la circulación portal. El sistema linfático y el propio hígado actúan como una barrera, pero algunos de esos gérmenes pueden llegar a la circulación general, con el riesgo infeccioso que ello implica. Esto explica en parte porqué los pacientes con SIC tienen tan a menudo sepsis por gram-negativos, probablemente relacionada con la TB⁽¹⁻³⁾.

Toda resección intestinal masiva desencadena un proceso de adaptación intestinal que consiste en cambios estructurales en el intestino restante que se traducen en un aumento en el número de células, sin cambios en su tamaño, o hiperplasia⁽⁴⁾. Los nutrientes intraluminales y las secreciones biliopancreáticas favorecen este fenómeno proliferativo y algunas hormonas, de origen gastrointestinal o no pueden jugar un papel aquí.

La hormona de crecimiento (GH)⁽⁵⁻⁷⁾, el factor de crecimiento epidérmico (EGF)⁽⁸⁻¹⁰⁾ y la insulina (INS)^(11,12) están entre ellas y se les atribuye un potente efecto estimulador de la adaptación intestinal, pero hay algunos resultados contradictorios⁽¹³⁻¹⁶⁾.

Dado que toda adaptación implica proliferación de la mucosa y refuerzo en las funciones absorbivas y de barrera, éste estudio pone a prueba la hipótesis de que la estimulación de la proliferación de la mucosa mediante GH, EGF o INS exógenas reduce la TB tras resección masiva intestinal en ratas tratadas con NP.

MATERIAL Y MÉTODOS

A 37 ratas Wistar adultas (200-300 g) (CRL: {WI} BR. Criffa, Barcelona Spain) criadas y mantenidas en nuestras instalaciones de acuerdo con la legislación actual⁽¹⁷⁾ se les colocó un catéter venoso central seguido de resección del 80% del intestino delgado incluyendo ciego y válvula ileocecal, con anastomosis ileo-cólica término-terminal. Recibieron nutrición parenteral (NP) (300 mL/kg/24 h conteniendo 1.8 g de aminoácidos, 15,7 g de glucosa, 2,5 g de grasa, 4.8 mEq de Cl, y 2,8 mEq de K por 100 mL, así como cantidades adecuadas de Ca, P y Mg, vitaminas y oligoelementos, lo que representa un aporte calórico total de 280 kcal/kg/24h. Setenta y cinco por ciento de calorías no proteicas se aportaron como carbohidratos y 25% en forma de grasa^(18,19) y se les asignó aleatoriamente a uno de los cuatro grupos siguientes:

- Grupo NP (N=10): nutrición parenteral.
- Grupo GH (N=9): NP y 1 mg/kg/d subcutáneo de GH.
- Grupo EGF (N=9): NP y EGF (150 microgr/24h, e.v.)
- Grupo INS (N=9) : NP e insulina s.c. (1 U.I./100kg/24h)

El catéter (Silastic 602-155, Dow Corning Corp. USA) se exteriorizó entre ambas escápulas y su extremo libre se conectó una conexión giratoria (Swivel 56-1308, Harvard Apparatus Ltd. UK). Por último, se conectó a una bomba de infusión de jeringa (Harvard Syringe infusion pump 22, Harvard Apparatus Ltd. UK). La parte del catéter entre el animal y la conexión se protegió con un muelle metálico para evitar mordeduras.

Los animales se colocaron en jaulas metabólicas individuales, y fueron observados diariamente durante diez días, pesados y anotadas sus ingestas, deposiciones y cantidad de orina.

Al final del experimento los animales fueron sacrificados en condiciones estériles, anestesiados (pentobarbital 20 mg/kg i.p.) y exanguinados por punción portal y cardíaca. Se tomaron muestras para cultivo de ganglios mesentéricos, sangre portal y sangre periférica así como muestras de yeyuno y colon, que se obtuvieron para determinar parámetros morfológicos (espesor de la mucosa) y de proliferación celular (índice de PCNA, antígeno de proliferación celular nuclear).

Las muestras de sangre portal (1 mL) y periférica (2 mL) se inocularon en frascos de hemocultivo (Bactec, Becton-Dickinson, Maryland, USA) e incubaron en un sistema automático de hemocultivo (Bactec 9240, Becton-Dickinson, Maryland, USA) durante siete días. Las muestras de ganglios mesentéricos se mezclaron en la misma cantidad de suero salino estéril, homogeneizaron y cultivaron con un asa calibrada de 100 µL (0,1 mL) en placas de triptycasa agar soja con sangre de caballo desfibrinada, manitol agar sal y MacConkey agar. Las placas se incubaron durante 48 horas a 35°C.

La identificación de las bacterias se hizo por medios convencionales: catalasa, bilisesculina y coagulasa para Gram positivos, y por un sistema convencional de identificación (Api 20E,B Biomerieux, France) para Enterobacteriaceas y otras cepas Gram-negativas. El cultivo de tejidos se consideró positivo con un crecimiento ≥ 100 CFU/g. Se definió la traslocación bacteriana como la presencia de gérmenes entéricos, gram-negativos en cualquiera de los territorios explorados (ganglio mesentérico, sangre portal o periférica), si el cultivo de la punta del catéter era negativo.

Los cortes de intestino fueron fijados en solución de Zamboni durante 24 horas, tras lo cual se lavaron en phosphate-buffered saline sucrose (PBS-sucrosa). El grado de proliferación celular se determinó mediante una técnica inmunohistoquímica basada en el antígeno de proliferación celular nuclear (PCNA). Este antígeno se marca en el núcleo de las células que están en estado proliferativo usando un anticuerpo primario (PC10) en muestras embebidas en parafina, de 4 micrones de espesor. El conteo se llevó a cabo en 30 criptas por preparación bajo microscopio (40X), usando un sistema semiautomático de análisis de la imagen (Videoplan, Kontron). Se determinó un índice de proliferación calculando la proporción entre células PCNA positivas y el número total de células por sección longitudinal en la ba-

Tabla I Espesor de la mucosa y proliferación celular yeyunal y del colon

Grupo	Espesor de la mucosa yeyunal (m, media ± SD)	Espesor de la mucosa cólica (m, media ± SD)	Índice de PCNA yeyunal (%, media ± SD)	Índice de PCNA cólico (%, media ± SD)
NP (n=10)	959,36 ± 33,7	1012,2 ± 44,9	62,3 ± 4,2	63,2 ± 6,1
GH (n=9)	1237,81 ± 59,72*	1298,0 ± 140,1*	76,8 ± 3,7*	76,9 ± 4,1*
EGF (n=9)	1229,96 ± 49,8*	1310,0 ± 97,8*	73,72 ± 4,02*	78,8 ± 2,5*
INS (n=9)	1301,0 ± 86,72*	1312,7 ± 88,6*	77,9 ± 2,8*	78,3 ± 3,0*

*P < 0,05 vs grupo NP

se de la cripta. El índice es igual al cociente entre el número de células en proliferación y el total de células multiplicado por 100.

Para el estudio morfométrico, los cortes se trataron con 0,1% polilisina y se tiñeron con hematoxilina-eosina. Las muestras se analizaron con el sistema morfométrico Videoplan (Kontron) usando un microscopio Leitz a 10X. Se midió la altura total de la mucosa, desde la base de la cripta a la punta de la vellosidad (10 medidas por preparación, en las 10 vellosidades más altas de cada muestra)

Todas las variables de cada grupo se describieron por métodos estadísticos comunes. Las comparaciones entre grupos se hicieron mediante test de Chi-cuadrado, con la corrección de Yates y test de la «t» de Student o de la «U» de Mann-Whitney. Se aceptó para todo el estudio una p < 0,05 como nivel de significación estadística.

RESULTADOS

El espesor de la mucosa del yeyuno y del colon fué significativamente mayor en las ratas tratadas con GH, EGF o INS que en las que recibieron solamente NP (Tabla I). La actividad proliferativa medida por el índice de PCNA fué también significativamente más alto en ellas que en el grupo NP (Tabla I).

La traslocación bacteriana a ganglios mesentéricos o sangre portal apareció en el 60% del grupo NP y en el 89% de los animales tratados con GH, EGF o INS (p = 0,07) mientras que la translocación a la circulación general, expresada por la presencia de gérmenes en sangre periférica, fué nula en el grupo NP, y del 44% en el grupo GH, 40% en el grupo EGF y 28% en el grupo INS (p < 0,05) (Tabla II). Los gérmenes más frecuentemente encontrados fueron *Escherichia Coli* y *Proteus Mirabilis*.

DISCUSIÓN

Tras una resección intestinal masiva, diferentes factores tróficos actúan sobre la adaptación intestinal. Uno de ellos ha atraído especialmente la atención de los investigadores de-

Tabla II Traslocación bacteriana en cada grupo

Grupos	Gánglios mesent. <i>S. portal</i>	Sangre periférica
NP (n=10)	60%	0%
GH (n=9)	89%	44% *
EGF (n=9)	89%	40% *
INS (n=9)	89%	28% *

* P < 0,05 vs grupo NP

bido a su efecto enterotrófico. La GH estimula la retención mineral y de nitrógeno y tiene acciones anabólicas, lipolíticas y diabetógenas. Además hay evidencia también de que la GH participa en el mantenimiento de la estructura y función de la mucosa intestinal ya que su sobreproducción endógena estimula el crecimiento de la mucosa y, por el contrario, su deficiencia conduce a hipoplasia de la mucosa. Hay receptores de GH ampliamente distribuidos a lo largo de la totalidad del tubo digestivo, lo que sugiere que tiene un papel regulador en las funciones digestivas e inmunes, incluyendo metabolismo, crecimiento y diferenciación^(20,21).

Shulman y cols.⁽¹⁴⁾ y Gomez de Segura y cols.⁽⁶⁾ encontraron efectos positivos en la adaptación intestinal en ratas sometidas a resección de intestino delgado, mientras que Park y cols.⁽¹³⁾ y Vanderhoof⁽¹⁶⁾ no obtuvieron los mismos resultados. La GH con glutamina ha sido estudiada en humanos y animales en un intento de estimular la adaptación intestinal, con resultados variables^(5,7,15,16).

El EGF es un polipéptido que se segrega en la saliva, leche, glándulas de Brunner del duodeno y en el intestino. Es un potente mitógeno que estimula la proliferación epitelial intestinal, como ha sido demostrado en diferentes trabajos experimentales⁽⁸⁾. Este efecto beneficioso durante la adaptación intestinal se atribuye a un incremento en la expresión de los receptores de EGF y como consecuencia, un aumento en la actividad ligando/receptor⁽⁹⁾. El EGF se ha estudiado también en ratas en unión con Interleukina-11, demostrando tener un efecto trófico intestinal⁽¹⁰⁾. Su posible efecto sobre la TB ha sido experimentado en conejos recién nacidos⁽⁸⁾, apreciándose una disminución clara de la traslocación en los animales tratados con EGF, lo que contrasta con nuestros re-

sultados, seguramente debido al hecho de que en el animal recién nacido la TB depende, entre otras cosas, de la colonización descendente y progresiva del intestino, cosa que no sucede en el animal adulto⁽²²⁾.

La insulina estimula la retención de nitrógeno y tiene un efecto anabolizante, además de controlar el metabolismo de la glucosa. Estudios recientes demuestran que la insulina y el factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I (IGF-I) son unos potentes estimuladores de la proliferación epitelial intestinal^(11,12). Su efecto sobre la TB en el gran quemado ha sido investigado en ratas, con resultados favorables⁽²³⁾. También ha demostrado disminuir la TB cuando se administra con glutamina en el trasplante intestinal experimental⁽²⁴⁾.

Nuestros resultados confirman el efecto trófico de la GH, EGF e INS sobre la mucosa intestinal, ya que los animales tratados mostraron aumentos significativos del espesor de la mucosa y del índice de proliferación celular, pero, en contra de lo esperado, éste efecto enterotrófico no fué beneficioso en términos de prevención de la TB, ya que dichos factores tróficos da la impresión de que más que reducirla, la aumentan.

No hay mucha información en la literatura acerca de la relación entre resección intestinal y sepsis relacionada con la TB y, aún menos, acerca del efecto de la GH sobre la TB.

En ratas irradiadas tratadas con GH la traslocation se redujo⁽⁶⁾, pero Herndon et al. no encontraron diferencias en la incidencia de episodios sépticos en un estudio aleatorio y doble ciego (placebo versus GH recombinante humana) en niños grandes quemados⁽²⁵⁾. Gottardis et al. encontraron que el tratamiento con GH no tuvo influencia en el curso de la enfermedad en 20 pacientes con sepsis generalizada⁽²⁶⁾.

Dos recientes ensayos clínicos controlados, prospectivos, randomizados, doble ciego, en Fase III, llevados a cabo en unidades de cuidados intensivos europeas sobre adultos con quemaduras graves, mostraron una alta incidencia de mortalidad por sepsis en los pacientes que habían recibido GH, en comparación con el grupo placebo⁽²⁷⁾. Sin embargo Ramirez y cols. en un estudio de similares características, pero realizado en niños, no encuentran diferencias en la incidencia de sepsis en los tratados con GH respecto al grupo placebo⁽²⁸⁾.

No tenemos una clara explicación al hallazgo de que la GH aparentemente facilita la TB en ratas con intestino corto alimentadas con NP pero varios hechos deben ser tenidos en consideración.

1. La adherencia bacteriana a las células epiteliales intestinales es fundamental para que haya TB⁽²⁹⁾.
2. La IgAs es el principal factor a la hora de impedir la adherencia bacteriana⁽²⁹⁾.
3. La colecistoquinina mantiene la función de la IgAs en la mucosa⁽³⁰⁾.
4. La somatostatina (factor inhibidor de la liberación de GH) inhibe la secreción de colecistoquinina⁽³¹⁾.
5. Por un feed-back negativo, los niveles altos de GH pueden estimular la liberación de somatostatina⁽³²⁻³⁵⁾.

Basandose en esto, se puede emitir la siguiente hipótesis: la administración exógena de GH estimula la liberación de somatostatina con lo que se inhibe la secreción de colecistoquinina y, por tanto la función inmune (IgAs) de la mucosa se altera, la adherencia bacteriana aumenta y, con ella, la TB.

Esta hipótesis debe ser verificada en posteriores estudios, pero, de acuerdo con los resultados de nuestro trabajo, la idea de que la GH, el EGF o la INS puedan facilitar la TB y, como consecuencia, aumentar el riesgo de sepsis, debe ser tenida en cuenta a la hora de considerar estos tratamientos en pacientes con síndrome de intestino corto.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Lilly S.A. por proporcionarnos la GH empleada en este estudio, y a A.C. Estala y M. Fermin por su trabajo en el laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alverdy JC, Aoye E, Moss GS. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery* 1988;**104**:185-190.
2. Lloyd DA. Central venous catheters for parenteral nutrition: a double-edged sword. *J Pediatr Surg* 1992;**127**:21-25.
3. Pierro A, Van Saenne HFK, Donnell SC, et al. Microbial translocation in neonates and infants receiving long-term parenteral nutrition. *Arch Surg* 1996;**131**:176-179.
4. Izukura M, Evers BM, Parekh D, Yoshinaga K, Uchida T, Townsend CM, Thompson JC. Neurotensin augments intestinal regeneration after small bowel resection in rats. *Ann Surg* 1992;**215**:520-7.
5. Byrne TA, Morrisey TB, Nattakom TV, Ziegler TR, Wilmore DW. Growth hormone, glutamine and a modified diet enhance nutrient absorption in patients with severe short bowel syndrome. *J Parent Enteral Nutr* 1995;**19**:296-302.
6. Gomez de Segura IA, Prieto Y, Grande AG, Garcia P, Guerra A, Mendez J, de Miguel E. Growth hormone reduces mortality and bacterial translocation in irradiated rats. *Acta Oncol* 1998;**37**:179-185.
7. Kviets J. *Proceedings of the 11th Southeast European Congress on Pediatric Surgery*. 1998, May 22-24; Graz, Austria.
8. Okuyama H, Urao M, Lee D, Drongowsky RA, Coran AG. The effect of epidermal growth factor on bacterial translocation in newborn rabbits. *J Pediatr Surg* 1998;**33**:225-228.
9. Helmrath MA, Shin CE, Erwin CR, Warner BW. Epidermal growth factor upregulates the expression of its own intestinal receptor after small bowel resection. *J Pediatr Surg* 1998;**33**:229-234.
10. Fiore NF, Ledniczy G, Liu Q, Orazi A, Du X, Williams DA, Grosfeld JL. Comparison of interleukin-11 and epidermal growth factor on residual small intestine after massive small bowel resection. *J Pediatr Surg* 1998;**33**:24-29.
11. Chao JC, Donovan, S. Effects of insulin, insulin-like growth factors and epidermal growth factors on mitogenesis and disaccharidase activity in rat (IEC-6) and human (Fhs 74 Int) intestinal cells. *Chin J Physiol* 1996;**39**:253-263.

12. Chono E, Kudokawa T, Oda C, Kawasaki K, Yakamoto T, Ishibasi S. Expression of rac1 protein in the crypt-villus axis of rat small intestine: in reference to insulin action. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;**233**:455-458.
13. Park JHY, Vanderhoof JA. Growth hormone did not enhance mucosal hyperplasia after small bowel resection. *Scand J Gastroenterol* 1996;**31**:349-54
14. Shulman DI, Hu CSW, Duckett G. Effects of short-term growth hormone therapy in rats undergoing 70% small intestinal resection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992;**14**:3-11.
15. Van der bos E et al. *Proceedings of the 11th Southeast European Congress on Pediatric Surgery*. 1998, May 22-24; Graz, Austria.
16. Vanderhoff JA, Kollman KA, Griffin S, Adrian TE. Growth hormone and glutamine do not stimulate intestinal adaptation following massive small bowel resection in the rat. *JPEN* 1997;**25**: 327-331.
17. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas* 18-12-86 NL358/1 to NL358/28.
18. Aldazábal P, Eizaguirre I, Tovar JA et al: Nutrición parenteral total en la rata. *Cir Pediatr* 1992;**3**: 6-12.
19. Martins FM, Wennberg A, Khilberg R et al. Total parenteral nutrition with different ratios of fat, carbohydrates and lipids at two energy levels: an animal study. *JPEN* 1985;**9**:47-521.
20. Daughaday WH. Growth hormone, insulin-like growth factors and acromegaly. In: DeGroot LJ, De. *Endocrinology*. 3rd ed. Philadelphia, 1995. W.B. Saunders; pp. 305.
21. Delehay-Zervas MC, Mertani H, Martini JF, Nihoul-Fekete C, Morel G, Postel-Vinay MC. Expression of growth hormone receptor gene in human digestive tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;**78**:1473-80.
22. Van Camp JM, Drongowski R, Gorman R, Altalba M, Hirschi RB, Coran AG: Colonization of intestinal bacteria in the normal neonate: comparison between mouth and rectal swabs and small and large bowel specimens. *J Pediatr Surg* 1998;**29**:1348-1351.
23. Huang KF, Chung DH, Herndon DN. Insulinlike growth factor 1 (IGF-1) reduces gut atrophy and bacterial translocation after severe burn injury. *Arch Surg* 1993;**128**:47-53.
24. Zhang W, Frankel WL, Adamson WT, Mantell, MP, Bain A, Ziegler TR, Smith RJ, Rombeau JL. Insulinlike growth factor 1 improves mucosal structure and function in transplanted rat small intestine. *Transplantation* 1995;**59**:755-761.
25. Herndon DN, Barrow RE, Kunkel KR, Broemeling L, Rutan RL. Effects of recombinant human growth hormone on donor-site healing in severely burned children. *Ann Surg* 1990;**212**:424-431
26. Gottardis M, Benzer A, Koller W, Luger TJ, Pühringer F, Hackl J. Improvement of septic syndrome after administration of recombinant growth hormone (rhGH)? *J Trauma* 1991;**31**:81-86
27. *Public Communications from Pharmacia & Upjohn Pharmaceuticals and Rolf Gunnarson, MD to all industry and medical community involved with the use or potential use of recombinant human growth hormone*, Oct. 31, 1997.
28. Ramirez RJ, Wolf SE, Barrow RE, Herndon DN. Growth Hormone Treatment in Pediatric Burns. A Safe Therapeutic Approach. *Ann Surg* 1998;**228**:439-448.
29. Rocha A and Alverdy J. *Proceedings of the 11th Southeast European Congress on Pediatric Surgery*; 1998, May 22-24; Graz, Austria.
30. Alverdy J, Stern E, Poticha S, Baunoch D, Adrian T. Cholecystokinin modulates mucosal immunoglobulin A function. *Surgery* 1997;**122**:386-93.
31. Abucham J, Seymour R. Cysteamine induces cholecystokinin release from the duodenum. Evidence for somatostatin as an inhibitory paracrine regulator of cholecystokinin secretion in the rat. *Gastroenterology* 1990;**99**:1633-1640.
32. Daughaday WH. Growth hormone: normal synthesis, secretion, control and mechanism of action. In: DeGroot LJ, De. *Endocrinology*. 2nd de. Philadelphia, 1989, W.B. Saunders; 318-29.
33. Drago F, Montoneri C. Growth hormone and somatostatin interaction in the ulcerogenic effect of cysteamine in female rats. *J Physiol Paris* 1997;**91**:127-130.
34. Zheng H, Bailey A, Jiang MH, Honda K, Chen HY, Trumbauer ME et al. Somatostatin receptor subtype-2 knockout mice are refractory to growth hormone-negative feedback on arcuate neurons. *Mol Endocrinol* 1997;**11**:1709-1717.
35. Tannenbaum GS. Somatostatin as physiological regulator of pulsatile growth hormone secretion. *Horm Res* 1988;**29**:70-74.