

Contribución al estudio de la regulación hormonal de la secreción pancreática en el conejo

A. Murillo y María A. López

Departamento de Fisiología Animal
Universidad de Granada (España)
(Prof. G. Varela)

(Recibido el 20 de noviembre de 1970)

MURILLO, A. and M. A. LOPEZ. *A Contribution to the Hormonal Control of Pancreatic Secretion in the Rabbit*. R. esp. Fisiol., 27, 131-138. 1971.

Secretion of pancreatic juice in the rabbit and its control by gastrointestinal hormones was studied. The influence of these hormones on bile secretion was also briefly analyzed. Animals were anaesthetized with urethane; femoral vein was cannulated for injection of hormones and carotid artery to record blood pressure; after a mid-line incision, pylorus was ligated and bile and pancreatic ducts cannulated.

Secretion of pancreatic juice and bile were constant and high. Flow of pancreatic juice could be increased up to ninefold with secretion (1 U./kg), threefold with pancreozymin (10 U./kg) and 2.5 times with pentagastrin (10 μ g/kg). The threshold dose of secretin was 0.01 U./kg and that of pancreozymin 0.5 U./kg. Secretin decreased the enzyme content of pancreatic juice, and pancreozymin and pentagastrin highly increased it.

Secretin (1 U./kg) and pancreozymin (1 U./kg) slightly increased the flow of bile. Pancreozymin (10 U./kg) was a powerful stimulus on bile secretion, increasing both, flow and bile salts content.

El control de la secreción de jugo pancreático en mamíferos fue definido por MELLANBY (17) como la resultante de dos factores fisiológicos: la hormona secretina, que regularía el volumen de jugo segregado (4) y la actividad de los nervios vagos, que controlaría la actividad enzimática del mismo (2, 6). Posteriormente, el descubrimiento de la pancreozimina (12) y de la acción de la gastrina sobre la secreción pancreática (11) han completado nuestra idea de las circunstancias fisiológicas que regulan el trabajo secretor del páncreas exocrino. Pero, aun cuando estos factores parecen ser los mismos en todas las especies estudiadas, sus efectos son muy variables cuali y cuantitativamente,

sobre todo cuando se comparan animales con diferente régimen alimenticio.

La investigación fundamental sobre la secreción pancreática se ha realizado en carnívoros, perro y gato sobre todo, y esto ha limitado grandemente nuestra visión del problema. Las investigaciones realizadas en diversas especies de rumiantes mostraron ya algunas diferencias sobre el modelo generalmente aceptado y más recientemente los trabajos en el cerdo y el caballo han revelado otras peculiaridades. El conejo es una especie pobremente estudiada, y los trabajos de BAXTER (3) se concretaron al papel de la inervación simpática y parasimpática.

La escasez de datos sobre la secreción

pancreática, y la carencia de un estudio sobre el papel de las hormonas gastrointestinales en esta especie, nos impulsaron al estudio de la secreción pancreática en el conejo y las circunstancias fisiológicas que la regulan, estudio del que este trabajo es una nota parcial.

Material y métodos

Se han utilizado conejos de raza «castellana», de ambos sexos, de 2,3-2,8 kg de peso, alimentados antes de las experiencias con un pienso comercial para esta especie. El alimento, pero no el agua, se retiró 14 horas antes del comienzo de las experiencias.

La preparación quirúrgica fue la siguiente: los animales se anestesiaron con uretano por inyección intravenosa (vena marginal de la oreja). Se introdujo en la vena femoral una cánula cuyo extremo se situó en la vena cava ascendente abdominal, y que se utilizó para la administración de las hormonas ensayadas. Se canuló la arteria carótida para registro de presión arterial. Tras laparatomía media, se ligó el píloro, dejando libres los vasos epigastrioduodenales y se canularon el conducto biliar (colédoco) y el pancreático. Las distintas cánulas se conectaron al sistema de registro (Physiograph, E.M.). Para la presión arterial utilizamos un transductor Statham P23Db, conectado a la cánula carotídea. El flujo de jugo pancreático se registró con un sistema contador de gotas piezoeléctrico y para la secreción biliar empleamos un transductor fotoeléctrico. Los extremos de las cánulas biliar y pancreática se siliconaron para uniformar el tamaño de las gotas. El cálculo del volumen de ambas secreciones se ha hecho por pesada de las gotas y en la expresión de resultados suponemos que todas las gotas de jugo pancreático fueron iguales (0,023 g) y las de bilis también (0,06 g), considerando la densidad de ambos igual a la unidad.

Las muestras de jugo pancreático se

han recogido en pocillos rodeados de hielo, para evitar inactivación de enzimas, y las de bilis a la temperatura ordinaria.

Los resultados de secreción pancreática se expresan en términos absolutos y no relativos al peso del páncreas por la dificultad de pesar éste con exactitud.

Para el análisis químico de las muestras se han utilizado las siguientes técnicas.

Contenido en proteínas del jugo pancreático. Espectrofotometría a 280 m μ de diluciones 1:25 del jugo pancreático. Las lecturas se comparan con una curva standard de clorhidrato de l-tirosina. Los resultados, expresados en μ M de tirosina por ml son un índice del contenido en enzimas totales.

Actividad lipásica del jugo pancreático. Se emplea la siguiente modificación de la técnica citada por BERGMEYER (5). El jugo pancreático (100 μ l de dilución 1:1.250 en buffer de pH 7,4) se añade a 200 μ l de 2-naftil-miristato $1,4 \times 10^{-2}$ M (libre de naftol) y se incuba a 37,5° durante 10 minutos en presencia de solución de colato sódico 0,232 M (0,5 ml). El β -naftol liberado por las lipasas se copula con 3-nitrop-anisidina (4 ml de solución, 1 mg/ml en acetona); el color producido se fija con acético glacial y se lee a 540 m μ . Las lecturas se comparan con una curva standard de β -naftol y los resultados se expresan como μ moles de β -naftol liberado por hidrólisis del substrato. Los datos así obtenidos indican actividad lipásica y estearásica, pero esta última (que se determina por la misma técnica en ausencia de colato) es despreciable en las muestras analizadas.

En la expresión de los resultados se refieren a la producción total de lipasa y de enzimas. Ambos conceptos son un índice de la liberación absoluta de enzimas en la unidad de tiempo y se calculan multiplicando los valores de flujo por los de concentración de lipasa o enzimas totales, ambos en las unidades en que normalmente los expresamos.

Sales biliares. Se emplea la técnica de COQUELET (8) y los resultados se expresan como mg de ácido cólico por ml.

Los productos hormonales utilizados han sido: secretina de bóvido (Calbiochem) A grade; pancreozimina de bóvido (Calbiochem) B grade y pentogastrina, el pentapéptido terminal de la gastrina, bloqueado (t-BOC-Ala-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂) (Calbiochem) B grade. Las dos primeras se administraron en solución salina (ClNa, 9 ‰) y la pentogastrina se disolvió en dimetilformamida y se diluyó con solución salina.

Resultados

a) **SOBRE JUGO PANCREÁTICO.** *El flujo de reposo.* En todas las experiencias hubo flujo de jugo pancreático, aun en ausencia de cualquier estímulo digestivo, hormonal, nervioso o farmacológico conocido. El valor medio de este flujo de reposo fue 7,4 µl/minuto (tabla I) muy constante para cada animal pero variable entre 5 y 11 para los distintos conejos. Su actividad lipásica fue de 0,58 µmoles de β-naftol*. La secreción de los vagos cervicales (figura 1) no altera el flujo basal.

Respuesta a la secretina. La adminis-

* Véase significación de esta unidad en «Métodos».

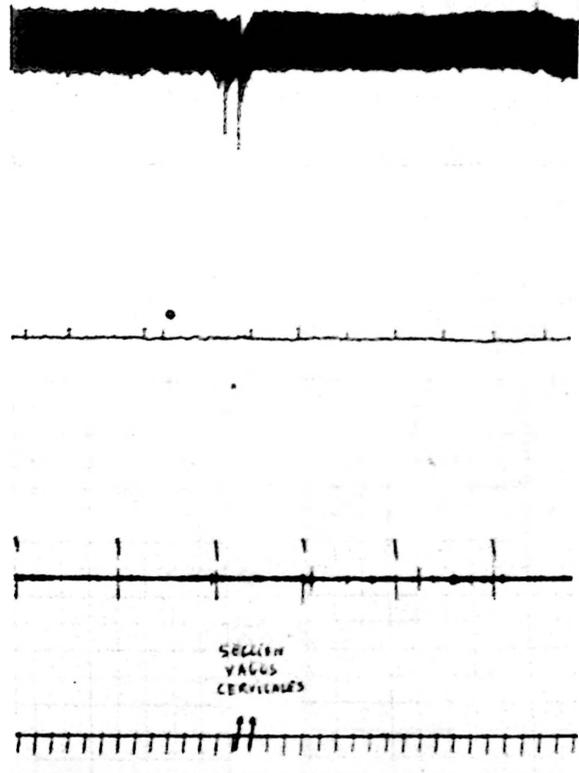


Fig. 1. Efecto de la sección de los vagos sobre el flujo de jugo pancreático.

El registro superior indica presión arterial. En las dos líneas siguientes cada raya vertical indica una gota de bilis y jugo pancreático, respectivamente. La señal de tiempo (línea inferior), cada 30 segundos.

Tabla I. Efecto de distintas hormonas sobre la secreción de jugo pancreático en el conejo. Datos medios de 10 animales.

Condiciones	Dosis	Flujo µl/min	Lipasas β-naftol µM	Enzimas totales µM tirosina/ml	Producción lipasas ^a	Producción enzimas totales ^a
Basal		7,4	0,58	0,99	4,30	7,33
Secretina	1 U/kg	66,7	0,55 (0,22) ^b	0,80 (0,20) ^b	36,68	53,36
Secretina	0,5 U/kg	36,8	0,26 (0,21) ^b	0,38 (0,25) ^b	9,57	13,98
Pancreozimina	1 U/kg	16,1	1,25 (1,60) ^c	1,40 (2,24) ^c	20,12	24,54
Pancreozimina	10 U/kg	26,2	1,00 (1,15) ^c	2,20 (2,20) ^c	26,20	57,64
Pentogastrina	10 µg/kg	18,4	1,48 (1,88) ^c	1,97 (2,77) ^c	27,23	36,25

^a Véase significación de estos valores en «Métodos».

^b Entre paréntesis, mínimos valores después de la inyección de secretina.

^c Entre paréntesis, máximos valores después de la inyección de las hormonas indicadas.

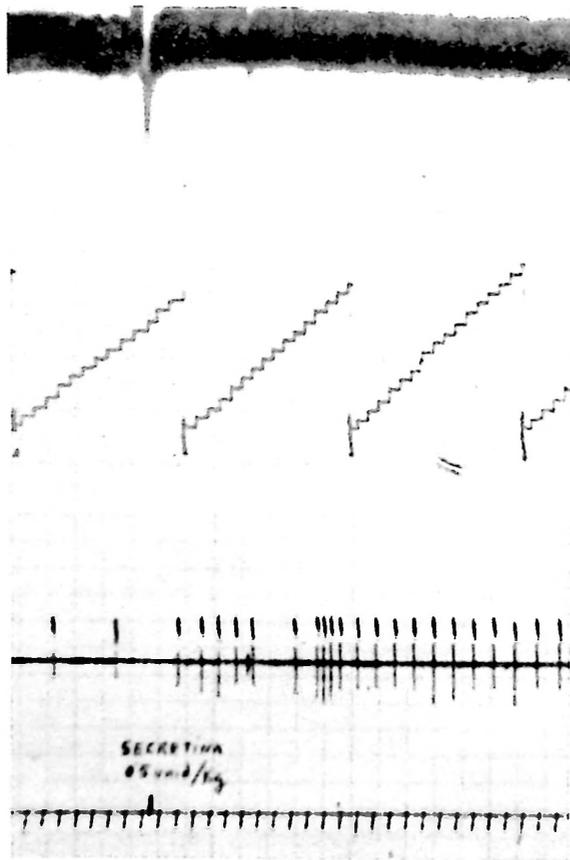


Fig. 2. Respuesta a la administración endovenosa de secretina (0,5 U/kg). En orden descendente los canales de registro indican presión arterial, flujo de bilis (una gota por escalón), flujo de jugo pancreático (una gota por línea vertical) y tiempo (una marca cada 30 segundos).

tración de secretina por vía venosa produce un flujo profuso de jugo pancreático (figura 2). Las respuestas a dosis de 0,5 y 1 U/kg supusieron un aumento de 5 y 9 veces el flujo de reposo, respectivamente. Paralelamente el contenido en enzimas totales y la actividad lipásica disminuyeron (fig. 5).

El aumento de flujo en respuesta a la secretina se presenta con un período de latencia de 60-90 segundos, alcanzando inmediatamente los valores máximos que se mantienen durante 15-25 minutos decreciendo después paulatinamente, para

volver a los valores basales en 30-60 minutos (valores para la dosis de 1 U/kg). El máximo efecto sobre la concentración de enzimas (mínimos valores de actividad enzimática) se presentó en la muestra siguiente a la del pico de máximo flujo. La respuesta a 0,5 U/kg fue más breve (15-17 minutos) pero cualitativamente semejante.

La sensibilidad del páncreas de conejo a la secretina es considerable. Dosis de 0,02 U/kg producen un aumento de 2-3 veces el flujo de reposo, y el aumento de flujo es ya claramente perceptible con dosis de 0,01 U/kg que debe considerarse como el valor umbral para el efecto de la secretina.

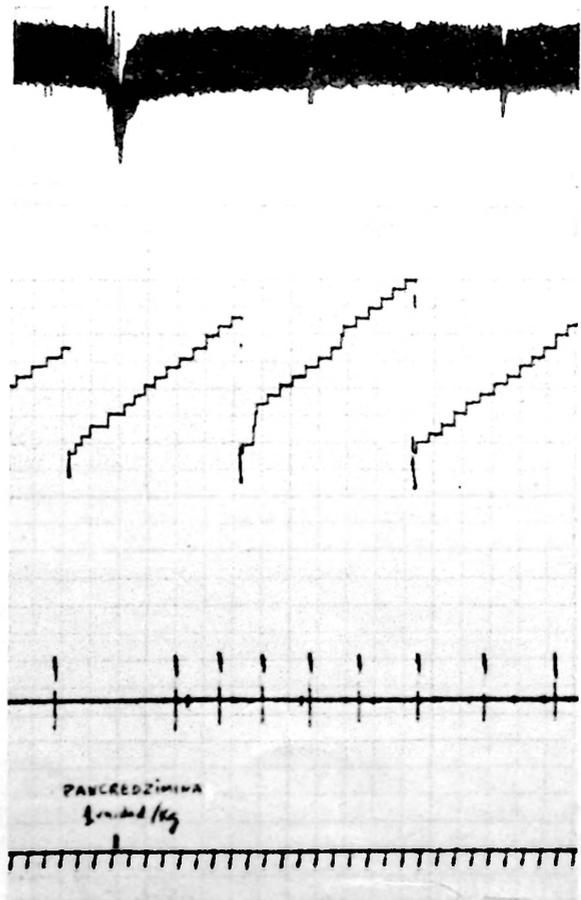


Fig. 3. Respuesta a la administración endovenosa de pancreozimina (1 U/kg). El significado de las bandas de registro es el indicado en la figura 2.

Tabla II. Efecto de distintas hormonas sobre la secreción de bilis en el conejo.

Datos medios de 5 animales.

Condiciones	Dosis	Flujo $\mu\text{l}/\text{min}$	Sales biliares mg/ml	Producción sales biliares mg/min
Basal	—	141	6,1	0,86
Secretina	1 U/kg	174	4,4	0,76
Pancreozimina	1 U/kg	180	5,2	0,93
Pancreozimina	10 U/kg	215	12,0	2,58
Pentogastrina	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	154	5,6	0,86

efecto semejante al de la secretina. A dosis superiores (10 U/kg) indujo cambios notables, con un aumento considerable del flujo de bilis y un incremento aún más marcado de la concentración de sales biliares. Bajo los efectos de la pancreozimina a la dosis citada la producción total de sales biliares en la unidad de tiempo se triplicó. La pentogastrina no alteró la secreción biliar.

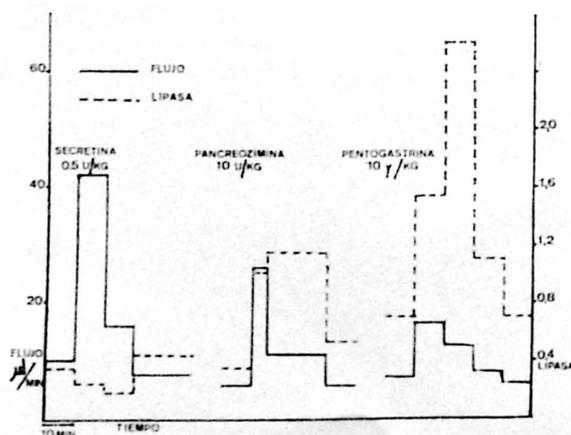


Fig. 5. Efecto de las hormonas gastrointestinales sobre el flujo de jugo pancreático y su contenido en lipasa.

c) SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL. La secretina produjo un descenso fugaz de la presión arterial o no la alteró en absoluto. La pancreozimina produjo siempre una

hipotensión breve. La pentogastrina no produjo hipotensión.

Discusión

El hecho de que la secreción pancreática en el conejo es continua fue observado primero por HEIDENHAIN (13) en conejos anestesiados y por PAVLOV (19) en animales conscientes. Estos resultados fueron confirmados por GOTTLIEB (10), SAVITSCH (20) y BAXTER (3) con diferentes preparaciones experimentales. El valor de flujo basal obtenido por nosotros coincide con el encontrado por BAXTER (3); en cuanto a las causas que mantienen esta secreción basal creemos que se trata de una verdadera secreción espontánea, semejante a la de la glándula parótida denervada de rumiantes (16). La sección de los vagos no alteró el flujo basal en nuestras experiencias, lo que elimina la posibilidad de un estímulo vagal constante; por otra parte el flujo de reposo se manifestó en animales en ayunas, con el píloro ligado y el conducto biliar exteriorizado, lo que desecha la hipótesis de un estímulo digestivo constante, que había sido sugerida por TERROINE (21). Estos resultados están de acuerdo con la permanencia de flujo pancreático en conejos privados de estómago e intestino (3).

La secreción constante de jugo pancreático en el conejo contrasta con la secreción intermitente del páncreas de carnívoros (perro y gato) y se asemeja a la de otras especies como el cerdo y el caballo (1, 7, 14).

El páncreas del conejo es muy sensible a la secretina y la dosis umbral (0,01 U/kg) es la misma que la encontrada por HICKSON (15) en el cerdo y notablemente inferior a la que según el mismo autor se requiere para provocar una respuesta en el perro. El efecto sobre la concentración de enzimas es negativo, como se ha encontrado por varios autores en todas las especies estudiadas. No obstante, este efecto no aparece en nuestras experiencias en

toda su magnitud, ya que los preparados comerciales de secretina están siempre impurificados por pancreozimina que compensa parcialmente el descenso de la actividad enzimática producido por la secretina. Como la pancreozimina se inactiva más parcialmente que la secretina, el efecto de la secretina sobre los enzimas se observa mejor en la segunda muestra después de su administración. Dado que la producción total de lipasa y enzimas globales aumenta con la inyección de secretina, su efecto debe interpretarse como que el estímulo de secreción de enzimas es ampliamente superado por el efecto sobre la secreción de la fracción inorgánica del jugo.

El efecto de la pancreozimina difiere grandemente del de la secretina. Su efecto sobre el flujo de jugo pancreático es más corto y muy inferior y se necesitan dosis mayores para que se manifieste. La influencia sobre la actividad enzimática consiste en un aumento notable a todas las dosis ensayadas, que se manifiesta más claramente en la muestra siguiente a la de máximo flujo, lo que puede interpretarse sobre la base de un menor efecto de dilución del jugo segregado.

La pentogastrina muestra su principal acción sobre el contenido enzimático para el cual es el más poderoso de los estímulos hormonales ensayados por nosotros. Frente a este efecto, el aumento del flujo es menos importante. También con la pentogastrina la influencia sobre los enzimas se presenta en su máxima dimensión cuando el aumento de flujo comienza a decrecer.

En cuanto al flujo de bilis, es muy elevado en esta especie (56,4 $\mu\text{l}/\text{min}/\text{kg}$), semejante al encontrado por nosotros (18), en la rata anestesiada (60 $\mu\text{l}/\text{min}/\text{kg}$) y netamente superior al observado en perros conscientes (34 $\mu\text{l}/\text{min}/\text{kg}$) (22). En cuanto a la concentración en sales biliares es semejante a la de bilis de rata, y 8-10 veces inferior a la de bilis de perro. Teniendo en cuenta que la rata carece de

vesícula biliar, a diferencia del perro y el conejo, todo indica la pobre capacidad de la vesícula biliar del conejo para concentrar la bilis que ya ha sido notada por otros autores (9).

De todas las hormonas ensayadas la secretina tuvo un discreto efecto positivo, la pentogastrina fue indiferente y la pancreozimina (10 U/kg) indujo una fuerte respuesta secretora. Es difícil atribuir la respuesta a la pancreozimina a factores circulatorios (vasodilatación), ya que, aunque esta hormona produjo hipotensión, ésta fue pasajera y en la recuperación no se apreció taquicardia ni aumento del volumen latido, que podrían haber compensado la hipotensión aun en caso de que se hubiera mantenido la vasodilatación. Por otra parte, el efecto aumentando la concentración de sales biliares necesitaría otro tipo de explicación, que por ahora desconocemos.

Resumen

Se estudia la secreción de jugo pancreático en el conejo y su regulación por hormonas gastrointestinales. La influencia de dichas hormonas sobre la secreción biliar se analiza también brevemente.

La secreción de jugo pancreático y bilis fueron constantes y elevadas. El flujo pancreático pudo aumentarse 9 veces con secretina (1 U/kg), 3 veces con pancreozimina (10 U/kg) y 2,5 veces con pentogastrina (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$). La dosis umbral de secretina fue de 0,01 U/kg y la de pancreozimina de 0,5 U/kg. La secretina disminuyó la actividad enzimática del jugo segregado y la pancreozimina y la pentogastrina lo aumentaron grandemente.

La secretina (1 U/kg) y la pancreozimina (10 U/kg) aumentaron ligeramente el flujo biliar. La pancreozimina (10 U/kg) fue un poderoso estímulo de la secreción biliar, aumentando el flujo y la concentración en sales biliares.

Bibliografía

1. ALEXANDER y HICKSON: «Physiology of Digestion and Metabolism in the ruminant», p. 375, Oriel Press limited. Newcastle upon Tyme, 1970.

2. BABKIN, B. P. y SAVITSCH, W. W.: *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **56**, 321, 1908.
3. BAXTER, S. G.: *Am. J. Physiol.*, **96**, 343, 1931.
4. BAYLISS, W. M. y STARLING, E. H.: *J. Physiol.*, **28**, 325, 1902.
5. BERGMAYER, H. U.: *Methods of enzymatic analysis*, p. 776. Academic Press, New York, 1965.
6. BYLINA, A.: *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **142**, 531, 1911.
7. COMLINE, R. S., HALL, L. W., HICKSON, J. C. D., MURILLO, A. y WALKER, R. G.: *J. Physiol.*, **204**, 10 P, 1969.
8. COQUELET, O.: *C. R. Soc. Biol.*, **79**, 815, 1927.
9. DAVENPORT, H. W.: *Physiology of the digestive tract* (2.^a ed.), Year Book Medical Publ. Inc., p. 147, Chicago, 1966.
10. GOTTLIEB, R.: *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.*, **33**, 265, 1894.
11. GREGORY, R. A. y TRACY, H. J.: *Nature*, **204**, 935, 1964.
12. HARPER, A. A. y RAPER, H. S.: *J. Physiol.*, **102**, 115, 1943.
13. HEINDEHAIN, R.: *Pflüger's Arch.*, **14**, 457, 1877.
14. HICKSON, J. C. D.: *J. Physiol.*, **206**, 275, 1970.
15. HICKSON, J. C. D.: *J. Physiol.*, **206**, 299, 1970.
16. HILL, K. J.: In «Handbook of Physiology», Sec. 6, Vol. V, p. 2747. The American Physiological Society. Washington D.C., 1967.
17. MELLANBY, J.: *J. Physiol.*, **60**, 85, 1925.
18. MURILLO, A. y LÓPEZ, M. A.: En preparación, 1970.
19. PAVLOV, I. P.: *Pflüger's Arch.*, **17**, 555, 1878.
20. SAVITSCH, W. W.: *J. Physiol. (Russe)*, **1**, 134, 1918.
21. TERRONE, E. F.: *La sécrétion pancréatique*, Paris, 1913, citado por BAXTER, S. G. *Am. J. Physiol.*, **96**, 343, 1931.
22. VARELA, G., MURILLO, A. y LÓPEZ, M. A.: En preparación, 1970.