

Ácidos siálicos. XIV. Composición de la fracción glucídica del jugo gástrico de rata *

M. Cabezas

Departamento de Bioquímica
Facultad de Ciencias
Universidad. Salamanca

(Recibido el 27 de abril de 1972)

M. CABEZAS. *Sialic Acids. XIV. Carbohydrate Composition of Rat Gastric Juice.* R. esp. Fisiol., 28, 243-246. 1972.

Gastric juice was obtained from 24 rats after extirpation of salivary glands and pylorus ligature. Among the different sialic acids found in biological materials from other species, only the N-glycolylneuraminic acid was detected by paper chromatography in gastric juice from rats. This acid is in part bound and in part free. Its total concentration was 16 mg/100 ml. When only pylorus ligature was achieved, the mean value for sialic acid was 12 mg/100 ml; and 8 mg/100 ml, when both pylorus and cardia ligatures took place.

The concentration of oses (as galactose) was 144 mg/100 ml and that of osamines (glucosamine + galactosamine), 40. Total protein concentration was 280 mg/100 ml.

No differences were found between the gastric juice sialic acid concentrations in rats without gastric ulcers and those with ulcers produced by stress situations.

Los glucidoproteidos del tracto gastro-intestinal comprenden varios grupos heterogéneos de sustancias («mucoides», «mucoproteidos», «aminopolisacáridos», etc.) que influyen como lubricantes en la movilidad del contenido de dicho tracto y, sobre todo, en la protección de sus paredes. Tales características de los glucidoproteidos se deben, como es lógico, a la composición de los mismos, la cual determina sus propiedades fisicoquímicas.

Un intento de explicar el cometido que

podiera corresponder a los ácidos siálicos del jugo gástrico en estas funciones tropieza con las siguientes dificultades: a) El jugo gástrico es una mezcla de secreciones, a la cual se añaden las secreciones salivales (a su vez integradas por tres clases bien diferentes) e incluso el líquido duodenal por reflujo del contenido de la porción inmediata del intestino. b) Las enzimas, que se segregan juntamente con el jugo, pueden degradar los glucidoproteidos, dificultando, por tanto, su estudio.

Así como existen algunos datos relativos a la composición de los glucidoproteidos gástricos de la especie humana (5, 8), prácticamente se carece de información respecto a los mismos en la rata, animal,

* Trabajo realizado mediante Ayuda para el «Fomento de la Investigación en la Universidad» concedida por el Ministerio de Educación y Ciencia a este Departamento.

sin embargo, ampliamente usado en múltiples investigaciones de laboratorio.

El presente estudio se refiere: 1.° A la investigación de la naturaleza y concentración de los ácidos siálicos del jugo gástrico de ratas sometidas a circunstancias tendentes a ocasionarles úlceras gástricas. 2.° A la determinación de la naturaleza y concentración de otros constituyentes (osas y osaminas) de los glucidoproteidos de dicha secreción. 3.° A la determinación de las proteínas totales de la misma.

Material y métodos

Se utilizaron lotes de ratas blancas de laboratorio (180-220 g) en número igual de machos que de hembras, mantenidas a 18° en jaulas, con piensos comerciales como alimentación y agua *ad libitum* hasta 24 horas antes del comienzo de los ensayos.

Para el estudio de la composición química del jugo gástrico se empleó la secreción obtenida después de ligar el píloro y de extirpar quirúrgicamente las glándulas salivales* (con lo que se evitó el aporte de otras secreciones), transcurridos unos 18-25 días.

En algunos ensayos se operó con el precipitado de glucidoproteidos obtenido después de añadir 6 vol. de etanol del 96 % y ebullición durante 30 minutos (3).

Las hidrólisis para ácidos siálicos se hicieron con HCl 0,05 N a 80° durante 45 minutos, o con HCl 0,1 N; para osas y osaminas se efectuaron con HCl 1 N y 3 N, respectivamente, a 100° durante 4 horas.

La identificación de ácidos siálicos, osas y osaminas se realizó principalmente por

* Estas operaciones fueron realizadas por D. Juan Manuel García González, del Departamento de Farmacología (Prof. J. M. Bayo) de la Facultad de Medicina de Salamanca, quien suministró todas las muestras aquí usadas.

cromatografía en papel usando como líquidos de desarrollo: *n*-butanol-piridina-HCl 0,1 N (5:3:2); y *n*-butanol-ácido acético-H₂O (4:1:5) (v/v) y como reveladores el reactivo de Ehrlich (2), en el primer caso, y la disolución de NO₂Ag para las osas y osaminas.

La determinación de ácidos siálicos se hizo por el método del resorcinol (9) modificado (7) y/o por el del ácido tiobarbitúrico (1, 11). Las hexosas fueron valoradas por el procedimiento del TILLMANS y PHILIPPI (10), y las hexosaminas por una modificación del método de ELSON y MORGAN (4). Las proteínas fueron valoradas por el método de LOWRY (6) usando seralbúmina bovina como patrón.

Resultados y discusión

En la tabla I se recogen los valores medios y las desviaciones estándar de las concentraciones de ácidos siálicos (referidos a ácido N-acetilneuramínico) de jugo gástrico procedente de ratas a las que previamente se había ligado el píloro (lotes I

Tabla I. Concentración de ácidos siálicos (expresados en ácido N-acetilneuramínico) (mg/100 ml de jugo gástrico) en lotes de ratas a las que previamente se ligó el píloro (I y II), el píloro y el cardias (III y IV), el píloro y extirpación de glándulas salivales (V y VI).

Entre paréntesis, número de animales por lote.

Lote	Tratamiento	Ácidos siálicos (mg/100 ml) $\bar{m} \pm s$
I ♂	Ligadura de píloro (10)	11,2±2,1
II ♀	Ligadura de píloro (10)	13,1±2,2
III ♂	Ligadura de píloro y cardias (8)	6,3±3,8
IV ♀	Ligadura de píloro y cardias (10)	9,2±3,8
V ♂	Ligadura de píloro y desalivación total (12)	13,8±4,0
VI ♀	Ligadura de píloro y desalivación total (12)	18,5±3,7

Tabla II. *Ácidos siálicos liberados mediante HCl 0,05 N del precipitado que resulta al tratar con 6 vol. de etanol del 96 % los 130 ml de jugo gástrico de ratas a las que previamente se había ligado el píloro y extirpado las glándulas salivales (lotes V y VI).*

Hidrólisis	% ácidos siálicos referidos al peso del precipitado seco
1.ª	3,25
2.ª	1,05
3.ª	0,24
4.ª	0,12
5.ª	0,05
Total	4,71

y II), el píloro y el cardias (lotes III y IV) y el píloro y extirpación de glándulas salivales (lotes V y VI); en este caso último se dejaron transcurrir entre 18 y 25 días antes de recogerse las muestras.

Puede deducirse que los valores medios de los cuatro primeros lotes concuerdan sensiblemente con la cifra indicada por otros autores (8) para el jugo gástrico normal de la especie humana (7,31 mg/100 mililitros). En cambio, en los lotes V y VI se aprecia un valor generalmente mayor, tal vez motivado por un estímulo de la secreción.

No parece factible establecer una correlación entre la cifra de ácidos siálicos en jugo gástrico con la producción de úlceras en ratas sometidas al frío o a situaciones de «stress» por posición. Así, en ratas sin úlceras se obtuvo la concentración media de 11,2 mg/100 ml (por el método del tiobarbitúrico) y 10,9 (por el método del p-dimetilaminobenzaldehído), mientras que, paralelamente, en ratas con úlceras los valores fueron 10,6 y 10,4. Tampoco en la especie humana se han hallado diferencias en esas concentraciones de individuos con y sin úlceras (8).

Reunidas las muestras individuales de jugo gástrico de los lotes V y VI, se obtuvo un volumen de 150 ml; parte de él (130 ml) se sometió a precipitaciones con

6 vol. de etanol del 96 %; en el precipitado se hicieron cinco hidrólisis sucesivas con HCl 0,05 N. La liberación de ácidos siálicos se expresa en la tabla II. Puede deducirse de ella que, a partir de la primera hidrólisis, va disminuyendo el porcentaje de ácidos siálicos de los hidrolizados.

También se valoraron los ácidos siálicos que pasan al sobrenadante hidroalcohólico resultante de la precipitación anterior.

Los resultados, expresados en miligramos de ácidos siálicos por 100 ml, fueron los siguientes: Previa hidrólisis clorhídrica, 1,60; sin hidrolizar, 1,45.

Es decir, los ácidos siálicos se hallarían libres en el jugo gástrico de rata en una proporción elevada. Dada la acidez del jugo gástrico y la posición habitual de los ácidos siálicos al extremo de la molécula, este resultado no es sorprendente. Lo mismo sucede en la especie humana (5).

Empleando dos líquidos de desarrollo, se obtuvo por cromatografía en papel una sola mancha cuyo R_f, coincidente con el del testigo, corresponde al ácido N-glicolilneuramínico.

También por cromatografía en papel se identificaron como osa predominante la galactosa, e indicios de glucosa y fucosa; y glucosamina y galactosamina, como osaminas.

En la tabla III se recopilan los principales datos obtenidos sobre la composición del jugo gástrico de ratas sometidas

Tabla III. *Composición del jugo gástrico de rata y del precipitado resultante de añadir al mismo 6 vol. de etanol del 96 %, procedente de 24 ratas a las que se ligó el píloro y extirparon las glándulas salivales previamente.*

	Ácidos siálicos	Osas	Osaminas	Proteínas
En jugo gástrico (mg/100 ml)	16,1	144,2	40,2	280,6
En el precipitado etanólico (mg/100 mg)	4,7	41,0	10,4	19,4

a ligadura de píloro y extirpación de las glándulas salivales.

La cifra de proteínas se halla próxima a los 330 mg/100 ml, citada para la especie humana (8).

Resumen

Para disponer de jugo gástrico exento de otras secreciones, se ha extraído el jugo gástrico de 24 ratas a las que previamente se había ligado el píloro y extirpado quirúrgicamente las glándulas salivales. En él se han determinado la naturaleza y concentración de ácidos siálicos, osas y osaminas, y se han valorado las proteínas totales.

Por cromatografía en papel se ha detectado como ácido siálico solamente el ácido N-glicolilneuramínico, el cual se halla en parte combinado y en parte libre. Los valores de dicho ácido varían de un animal respecto a otro. En el lote al que se había ligado el píloro y extirpado las glándulas salivales la concentración media fue de unos 16 mg/100 ml para las 24 ratas (mitad hembras) analizadas. En otros ensayos en los que se había ligado solamente el píloro, la cifra media para un grupo de 20 ratas fue de 12 mg/100 ml. Y para otro lote de 18, en que se había ligado píloro y cardias, el valor obtenido fue de 8 mg/100 ml.

En el jugo gástrico obtenido como se indicó primeramente se identificaron la galactosa, la glucosamina y la galactosamina como osa y osaminas predominantes. La concentración de osas fue 144 mg/100 ml, y la de osaminas

40 mg/100 ml. Las proteínas totales dieron el valor de 280 mg/100 ml, coincidente con el del jugo gástrico humano.

No fue posible establecer una correlación entre concentración de ácidos siálicos y producción de úlceras gástricas en ratas sometidas a situaciones de «stress», ya que las concentraciones respectivas de ácidos siálicos en jugo gástrico de ratas con y sin úlceras fueron sensiblemente concordantes.

Bibliografía

1. AMINOFF, D.: *Biochem. J.*, **81**, 384, 1961.
2. BEZKOROVAINY, A.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **24**, 604, 1957.
3. CABEZAS, J. A.: *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **48**, 381, 1966.
4. ELSON, L. A. y MORGAN, W. T.: *Biochem. J.*, **59**, 638, 1955.
5. HOSKINS, L. C. y ZAMCHECK, N.: *Gastroenterology*, **44**, 456, 1963.
6. LOWRY, O. H., ROSENBOUGH, N. J., FARR, J. y RANDALL, R. J.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265, 1951.
7. MIETTINEN, T. y TAKKI-LUUKKAINEN, I. T.: *Acta Chem. Scand.*, **13**, 856, 1959.
8. RICHOND, V., CAPUTTO, R. y WOLF, S.: *Gastroenterology*, **29**, 1017, 1955.
9. SUENNERHOLM, L.: *Biochim. Biophys. Acta*, **24**, 604, 1957.
10. TILLMANS, J. y PHILIPPI, K.: *Biochem. Z.*, **219**, 36, 1929.
11. WARREN, L.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 1971, 1959.