

Efecto de la denervación vagal sobre las fosfatasas alcalinas de la mucosa yeyunal de la rata

J. M. Vázquez, P. Gómez-Bosque y C. Vaquero

Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Valladolid

(Recibido el 9 de septiembre de 1975)

J. M. VAZQUEZ, P. GOMEZ-BOSQUE and C. VAQUERO. *Effect of Vagal Denervation on the Alkaline Phosphatases of the Jejunal Mucosa of the Rat*. Rev. esp. Fisiol., 32, 123-126. 1976.

The results of experiments conducted on the qualitative (histochemical) and quantitative (biochemical) determination of alkaline phosphatase present in rat yeyunum mucosa. Normal and vagal denervated animals were used. Results indicate that there are no significant enzymatical changes after vagal extirpation.

Hay grandes diferencias entre las opiniones de si la denervación vagal intestinal que produce la vagotomía total es la causa de graves alteraciones anatomofuncionales que justificarían la instauración del llamado síndrome postvagotomía (2, 3). Claro ejemplo de ello son las discrepancias entre los que han estudiado la influencia de la vagotomía en los diferentes sistemas enzimáticos elaborados por las células epiteliales del intestino. En dichos trabajos sólo se han utilizado técnicas histoquímicas (18) de valoración un tanto subjetiva y fuente de posible error. Debido a ello se ha creído interesante emprender un estudio similar en la rata, pero utilizando no sólo las técnicas anteriormente expuestas, sino, además, otras de cuantificación bioquímica mucho más objetivas. El estudio se realizó en el momento de

máxima alteración, esto es, a las dos semanas del postoperatorio (2, 5).

Material y métodos

Se han utilizado 20 ratas Wistar, machos, de peso entre 150 y 200 g, agrupadas en 10 parejas, en cada una de las cuales un animal iba a servir como experimental y el otro como testigo. Los animales que componían cada pareja fueron estudiados al unísono.

A la rata considerada como experimental se le practicaba una vagotomía derecha a nivel del cuello y a los tres días una denervación troncular bilateral a nivel del esófago intraabdominal. Ambas operaciones se realizaban bajo anestesia con éter y según técnica original (17). El animal testigo correspondiente se sometía

a anestesia y apertura de la cavidad similar al experimental.

A los 15 días de la última operación la pareja era sacrificada por decapitación y, seguidamente, a cada rata se le extirpaba un segmento de yeyuno de unos 3 cm, distante exactamente 2 cm del ángulo de Treitz, con el que se iba a realizar la determinación histoquímica de las fosfatasas alcalinas. Seguidamente, se extraía un asa yeyunal de 10 cm de longitud y distante su extremo proximal 8 cm del ángulo antedicho. En su mucosa se realizaría la valoración bioquímica de los antedichos enzimas.

Para la realización de las determinaciones cualitativas, el primer fragmento era sometido a una fijación de media hora en fijador serra (tres partes de alcohol de 96°, dos de formol y una de ácido acético glacial), para pasar después a una deshidratación e inclusión en parafina por pases de muy corta duración (17). De los bloques así logrados se obtenían cortes transversales de 10 micras de espesor, los cuales eran desparafinados y sometidos a la técnica histoquímica de tinción de fosfatasas alcalinas del naftol-AS-fosfato (1, 8) con reactivos Sigma. Esta técnica tiñe las fosfatasas alcalinas intracelulares de un color violáceo que puede valorarse según su intensidad (8, 13). Es un método fácil de realizar, limpio y con resultados tan fidedignos como otras técnicas ya clásicas, como la de GOMORI (11). La permanencia de la coloración es muy duradera.

Para la determinación cuantitativa se utilizaba la segunda asa obtenida. Se evertía y, por expresión, se obtenía toda su mucosa (17). Esta era depositada en un homogeneizador con 3 ml de agua destilada a 4° C. Tras la homogeneización, se centrifugaba a 2.000 r.p.m. durante 10 minutos; en el sobrenadante se determinaba la actividad fosfatásica alcalina por el método de KING y ARMSTRONG (14, 16) que utiliza como sustrato el fosfato de fenilo. Las unidades así obtenidas eran

referidas a la cantidad total de proteínas del sobrenadante.

El método utilizado para la determinación de proteínas fue el de Biuret. Del resultado de todas las experiencias se realizó un análisis comparativo-estadístico aplicando el método de la «t» de Student.

Resultados

Las fosfatasas alcalinas aparecen a la observación microscópica como depósitos violáceos, de color más o menos intenso, localizados en las células funcionales del sistema cripta-vellosidad, esto es, en las células absortivas que recubren la vellosidad, nunca en la cripta (fig. 1). En dichas células, los enzimas se encuentran en el protoplasma, fundamentalmente en el polo apical y, sobre todo, en el borde de cepillo. Las células de moco no poseen coloración (fig. 1). Todo ello corresponde a un patrón de normalidad (12). Tras el estudio comparativo de los cortes de todos los animales se puede afirmar que en ninguna de las parejas había diferencia significativa de coloración entre los correspondien-

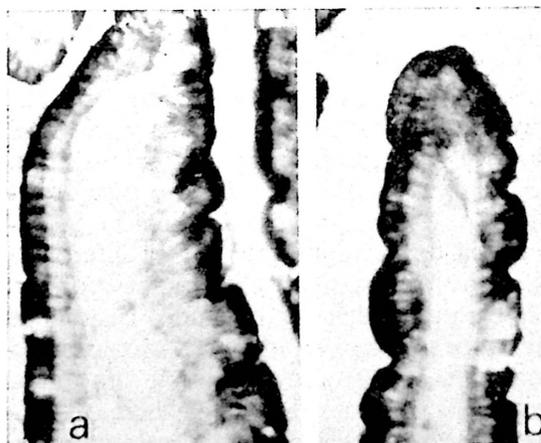


Fig. 1. Influencia de la vaguectomía sobre las fosfatasas alcalinas del yeyuno de rata. Tinción por el método del Naftol-AS-fosfato. a) Vellosidad de un animal control; b) vellosidad de un animal experimental (40 X).

Tabla I. Fosfatasa alcalina de la mucosa intestinal de rata normal y vaguectomizada. Las cifras de la media y de su desviación estándar vienen dadas en unidades de fosfatasa alcalina/mg de proteína (14). n.s.: no significativo. Número de animales por grupo, 10.

Animales	Fosfatasa alcalina	P
Testigos	54,84 ± 46,83	n.s.
Experimentales	53,78 ± 37,43	

tes al animal testigo y al experimental. Por ello, se puede concluir que, según las técnicas histoquímicas empleadas, la denervación vagal del intestino no conlleva, en la rata, una disminución en la actividad, y probablemente en la producción, fosfatásica alcalina, a las dos semanas de la intervención.

Sin embargo, esta manera de estudiar los enzimas puede estar sometida a determinaciones subjetivas y a resultados dudosos. Por ello se realizaron determinaciones bioquímicas de tipo cuantitativo, buscando una evidencia más científicamente mensurable. En la tabla I se recogen los resultados finales tras la aplicación del método estadístico. El estudio de las medidas y de sus desviaciones estándar indica que los animales experimentales tienen en su mucosa una cantidad de fosfatasa alcalina muy semejante a la de los testigos. Todo lo cual reafirma la aseveración que se anunciaba en anterior apartado.

Discusión

Dos aportaciones importantes sobre estudios similares existen en la bibliografía, y ambas discordantes entre sí. Por una parte, BALLINGER y su escuela (2-5) han descrito en experiencias realizadas en perros una clara disminución de varios enzimas de la mucosa intestinal, entre ellos la fosfatasa alcalina, tras la vagotomía

total. Esta disminución era muy intensa desde la 1.^a a la 3.^a semanas del postoperatorio, decreciendo posteriormente y acabando por desaparecer a la 12.^a. Dicho estudio se realizó con técnicas histoquímicas. A estas alteraciones, junto a las estructurales que hallaban, achacaron los disturbios, a veces graves, que se podían imputar a la técnica de la vagotomía total.

Por otra parte, ELLIS y PRISE-DEVIES (9) no apreciaban con técnicas histoquímicas alteración alguna en los enzimas mucosales del yeyuno de rata, entre ellos las fosfatasa alcalinas, en ninguna de las semanas estudiadas.

En la segunda semana del postoperatorio, donde se cita por BALLINGER *et al.* (2, 5) el máximo de disminución, no observamos ninguna alteración de las fosfatasa alcalinas de la mucosa yeyunal de rata, no sólo con técnicas histoquímicas sino también con un estudio cuantitativo como es la determinación bioquímica y su posterior análisis estadístico.

La cantidad de fosfatasa alcalinas del intestino yeyunal, que es un índice del grado de diferenciación y maduración de las células absortivas (6, 7, 15), ya que por una parte son producto directo de la biosíntesis proteica y, por otra, juegan un papel importante, aunque no del todo conocido (7, 10, 16) en los fenómenos absortivos y digestivos intestinales, es también un índice de las oscilaciones en torno a la normalidad que se pueden producir en la mucosa intestinal. Por todo ello, se puede afirmar que la denervación vagal del intestino no conlleva alteración en la cantidad de fosfatasa alcalinas de su mucosa y se sugiere que, tal vez, tampoco haya repercusión tras ella de la dinámica de maduración e intercambios cíclicos del epitelio intestinal, ni de su funcionalidad biológica. Todo esto puede ser un dato negativo ante los enunciados que achacan a la vagotomía total las graves alteraciones dinámico-funcionales del llamado síndrome postvagotomía.

Resumen

Se presentan los resultados de experiencias sobre determinaciones cualitativas (histoquímicas) y cuantitativas (bioquímicas) de las fosfatasa alcalinas presentes en la mucosa yeyunal de rata en estudio comparativo entre animales normales y animales que han sufrido una denervación vagal. Los resultados indican la no modificación de dicho enzima tras la referida intervención.

Bibliografía

1. ACKERMAN, G. A.: *Laboratory Invest.*, **11**, 563-569, 1962.
2. BALLINGER, W. F.: *Am. J. Surgery*, **114**, 382-387, 1967.
3. BALLINGER, W. F., IIDA, J., APONTE, G., WIRTS, C. y GOLDSTEIN, F.: *Surgery Gynec. Obstet.*, **118**, 1305-1311, 1964.
4. BALLINGER, W. F., PADULA, R. y CAMISHION, R.: *Surg. St. Louis*, **57**, 409-415, 1965.
5. BALLINGER, W. F., PADULA, R., APONTE, G., WIRTS, C. y GOLDSTEIN, F.: *Surg. St. Louis*, **57**, 535-541, 1965.
6. BAXTER-GRILLO, D. L.: *Histochem. J.*, **21**, 129-135, 1970.
7. BRINDLEY, D. y HUBSCHER, G.: *Biochim. Biophys. Acta*, **106**, 495-509, 1965.
8. BURSTONE, M. S.: *J. Nat. Can. Inst.*, **20**, 601-607, 1958.
9. ELLIS, H. y PRISE-DAVIES, J.: *J. Exptl. Pathol.*, **48**, 135-141, 1967.
10. GOLDFISCHER, S., ESSNER, E. y NOVIKOFF, A. B.: *J. Histol. Cytochem.*, **12**, 72-95, 1964.
11. GOMORI, G.: *J. Cell. Comp. Physiol.*, **17**, 71, 1941.
12. JOHNSON, F. R. y KUGLER, J. M.: *J. Anat.*, **87**, 247-256, 1953.
13. KAPLOW, L. S.: *Am. J. Clin. Pathol.*, **39**, 439-446, 1963.
14. KING, J. y ARMSTRONG, A. R.: *Can. Med. Ass.*, **31**, 376, 1934.
15. MOOG, F.: *J. Exptl. Zool.*, **118**, 187-208, 1951.
16. TIETZ, N. W.: «Fundamentals of Clinical Chemistry». Saunders Co. Philadelphia, 1970.
17. VÁZQUEZ, J. M.: Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid, 1973.
18. WILLIAMS, J. A. y COX, A. G.: «After Vagotomy». Butterworths. Londres, 1969, pág. 68.