

## **Fosfatasa s digestivas en los anfibios**

### **2.ª comunicación: Hígado, Bilis, Páncreas**

por FRANCISCO PONZ

#### Introducción

En un trabajo anterior (1) hemos estudiado el pH óptimo y la distribución de las fosfomonoesterasas a lo largo del tubo digestivo de *Rana esculenta*. En el presente, determinamos la actividad fosfatásica en medio alcalino y ácido de bilis vesicular, hígado, páncreas e intestino, comparando con tejidos no digestivos (pulmón) y plasma, en el mismo anfibio. Se estudia así mismo el pH óptimo de las fosfatasa s hepáticas.

#### Material y métodos

Utilizamos ranas de 15 a 50 g. de peso, empleando para cada serie de determinaciones lotes de 4 a 6 animales. Bajo anestesia de éter (adicionado al agua de una cubeta), se extrae la sangre por punción en el arco aórtico izquierdo, mezclando la de todas las ranas del grupo. Inmediatamente se extraían de cada animal la vesícula biliar, que se vaciaba en un mismo tubo de hemólisis; y el páncreas, hígado casi entero, intestino (no siempre) y pulmones que se reunían por órganos en cámara húmeda, pesando en balanza aperiódica. Triturados en mortero se autolizaban en 30 a 40 (páncreas), 100 (hígado), 20 (pulmón) ó 50 (intestino) veces su peso de agua clorofórmica, durante 24 horas, a la temperatura ambiente, filtrando luego por algodón. La bilis recogida de todas las vesículas se diluía de 30 a 40 veces. El suero o plasma, de 2 a 4 veces.

La determinación de fosfatasas, con glicerofosfato sódico como sustrato, una hora de hidrólisis a 37°, y con soluciones amortiguadoras de acetato-veronal (MICHAELIS) y glicocola-sosa (SÖRENSEN), según SOLS (2) y aplicando sistema colorímetro de dos standards de SOLS (3) a la reacción del azul de molibdeno para la determinación del fósforo. Los valores del pH eran comprobados con potenciómetro (Etco). Los resultados en órganos se expresan en mg. de P. liberados por gramo de tejido fresco; los de suero y bilis en mg. de P. liberados por 100 c. c. (unidades BODANSKY).

### Resultados

#### 1. Actividad fosfatásica de diferentes órganos de rana.

En la Tabla 1 se reúnen los resultados de las determinaciones en 8 lotes de ranas. Se expresan los valores de fosfatasas alcalinas (A<sub>1</sub>) y ácidas (A<sub>2</sub>) obtenidos a pH 9, 4 y 5 respectivamente.

TABLA I. — Actividad fosfatásica (mg. de P/g. de tejido fresco/hora) de diferentes órganos de *Rana esculenta*.

Grupos	Hígado		Páncreas		Pulmón		Intestino	
	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>						
1	10,5	13,5	1,6	1,8	0,9	1,0	3,0	0,7
2	9,1	10,3	—	—	1,3	1,6	2,2	0,5
3	9,6	11,1	2,4	2,7	1,5	1,2	—	—
4	8,9	10,2	1,9	2,1	0,7	0,9	—	—
5	14,4	14,0	2,0	1,8	1,8	2,2	5,3	1,0
6	12,2	13,7	1,4	1,6	1,2	1,3	4,0	0,9
7	15,4	14,6	1,9	2,2	1,4	1,0	—	—
8	12,3	14,1	1,8	2,5	0,8	1,5	—	—
Media	11,5	12,7	1,8	2,1	1,2	1,3	3,6	0,8

En hígado, páncreas y pulmón la relación de fosfatasas ácidas a alcalinas es casi 1, aunque en los dos primeros órganos parece haber siempre más ácida que alcalina. En cambio, en intestino hay muy poca fosfatasa ácida.

En rata, cobayo y ratón (4) la fosfatasa hepática ácida es considerablemente superior a la alcalina, en tanto que la relación es inversa en el conejo.

La relación de fosfatasas alcalinas hígado-intestino es de 3/1 en la rana frente a los mamíferos en los que, como es bien sabido, hay mucha más en intestino que en hígado; se debe, fundamentalmente, a la pobreza del intestino de rana en fosfatasa.

### 2. Fosfatasas $A_1$ y $A_2$ de suero y bilis.

No se han encontrado variaciones notables entre fosfatasas de suero y de plasma (citrato). Las incluimos juntas como séricas en la Tabla II.

TABLA II

Grupos	1	2	4	5	7	8	Media
$A_1$	3,5	4,3	6,3	3,9	4,4	5,2	4,6
$A_2$	0,9	1,2	1,5	1,7	1,1	1,3	1,3

Encontramos, pues, amplia variabilidad: 3 a 6 unidades para las alcalinas y 0,9 a 1,7 para las ácidas.

En bilis hemos hallado grandes diferencias, dependientes sin duda de su grado de concentración; desde 15 a 200 unidades de fosfatasas alcalinas y de 4 a 30 de ácidas.

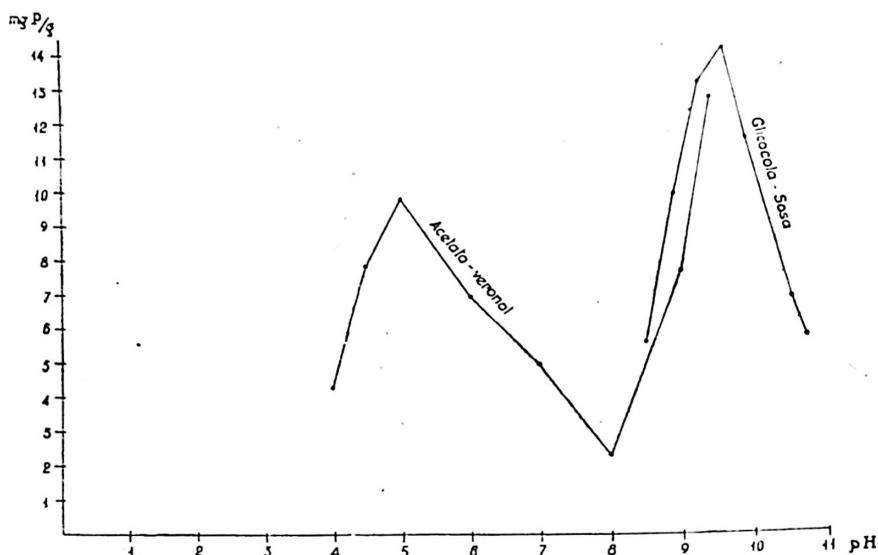
### 3. Optimo de pH para las fosfatasas hepáticas.

Se han preparado dos series de soluciones amortiguadoras: una entre pH 4 y 9,4 de acetato veronal de Michaelis, corrigiendo con ácido acético normal la desviación introducida por el glicerofosfato en los pH inferiores a 7, comprobando los pH. finales obtenidos potenciométricamente; y otra con mezclas Sørensen sosa-glicocola, entre pH 8,5 y 10,7. El autolizado era de 48 horas. La figura 1 expresa gráficamente el resultado.

Se ven dos máximos en la curva con acetato-veronal, correspondiendo a los pH 5 y 9,4 de los óptimos de las fosfatasas áci-

das y alcalinas respectivamente. En esta experiencia se ve una inferior actividad en medio ácido que en el alcalino, que puede atribuirse a la conocida lenta inactivación de la fosfatasa ácida con el tiempo.

Analizamos en otra experiencia el óptimo de la zona alcalina con soluciones sosa-glicocola, encontrando el máximo a un pH próximo a 9,6. El vértice alcalino es algo más agudo que el



ácido con base estrecha entre 8 y 11, coincidiendo con algunos datos de mamíferos.

Por lo tanto, el comportamiento de las fosfatasas hepáticas e intestinales de *Rana esculenta* frente al pH es muy semejante al de las fosfatasas de iguales tejidos de otros animales.

Agradezco a J. V. Tormo su colaboración en la parte experimental.

### Resumen

Se estudian las fosfatasas ácidas y alcalinas de intestino, hígado, páncreas y pulmón de *Rana esculenta*. El hígado es el más rico en fosfatasas con ligero predominio de las ácidas. Páncreas y pulmón son los más pobres, sobre todo el último. El intestino es muy pobre en fosfatasa ácida. La relación de fosfatasas alcalinas hígado a intestino es muy superior a la que se encuentra en los mamíferos. En el suero hay de 3 a 6 unidades Bodansky de alcalinas y de 0,9

a 1,7 ácidas. En la bilis se ha encontrado entre 15 y 200 unidades de alcalinas y 4 a 30 de ácidas.

El pH óptimo de las fosfatasas hepáticas es de 5 en el campo ácido y de 9,6 en el alcalino.

### Summary

A study is made of acid and alkaline phosphatases of the intestine, liver, pancreas and lung of the frog *Rana esculenta*. The liver is richest in phosphatases with a slight predominance of the acids. The pancreas and the lung are poorest, specially the latter. The intestine is very poor in acid phosphatase. The relation of alkaline phosphatase liver intestine is very superior to that found in mammals. In the serum there are from 3 to 6 Bodansky unities of alkaline and from 0.9 to 1.7 of acid phosphatase. In the bile were found between 15 and 200 unities of alkaline and from 4 to 30 of acid. The optimum pH of hepatic phosphatases is of 5 in the acid zone and of 9,6 in the alkaline zone.

### Bibliografía

1. PONZ, F. — R. Esp. Fisiol., 11, 114-119, 1946.
2. SOLS, A. y PONZ, F. — R. Esp. Fisiol., 11, 283-384, 1946.
3. SOLS, A. — R. Esp. Fisiol., 1, 355, 1945.
4. KROON, D. B., NEUMANN, H. y KRAYENHOFF, W. J. A. TH. — *Enzymologia*, 11, 186, 1944.

