

Laboratorio de Fisiología Comparada
Universidad de Barcelona
(Prof. F. Ponz)

Secreción intestinal de fosfatasas en la rana

por FRANCISCO PONZ *

Recibido para publicar el 12 de junio de 1948

Ha sido suficientemente probada en los mamíferos la presencia de fosfatasas alcalinas en la secreción intestinal (1, 2, 3, 7, entre otros). Recientemente, LÓPEZ NAVARRO (4) ha hecho un detenido estudio en el conejillo de Indias, rata y perro, demostrando claramente que la introducción de substancias nutritivas en el intestino provoca una secreción de fosfatasas por las células de la mucosa a diferencia de soluciones de ClNa con las que el fermento recogido después de la prueba es muy escaso. En trabajos anteriores nuestros (5, 6) hemos visto que el contenido de la mucosa intestinal de la rana en fosfatasas era muy bajo, comparativamente a los valores que se encuentran en los mamíferos, máxime teniendo en cuenta que tal desproporción no se da con otros órganos. Pareció interesante ver si a pesar de tal relativa pobreza, existía secreción de fosfatasas.

Material y Métodos

Se emplearon ejemplares de *Rana esculenta* (L.), de ambos sexos, de 12 a 39 g. de peso, mantenidos en ayuno previo de tres días en acuarios del laboratorio.

Anestesiado el animal con uretano (0,02 c. c. de sol. al 12,5 % en el saco linfático dorsal) se da un corte en la piel del vientre y se abre la pared abdominal en una extensión de unos

* Agradecemos al alumno J. V. Tormo su ayuda en las experiencias.

10 mm., pocos milímetros separado de la línea media. Dos cortes en los extremos del intestino sirven para lavarlo con 10 a 20 c. c. de Ringer; se liga antes del corte próximo a la cloaca y se inyecta la solución estímulo por el otro a la vez que se aprieta otra ligadura sobre la aguja que impide el escape de líquido y cierra finalmente el asa; esta segunda ligadura se hace en un punto del intestino inferior a la desembocadura de las secreciones biliar y pancreática. Se cose la pared abdominal y la piel y se deja a la rana en acuario. La anestesia es pasajera y muy poco después de terminar la operación las ranas se mueven libremente. A las 6 horas aproximadamente se extrae el intestino ligado, se arrastra con Ringer su contenido a tubo de centrífuga graduado, completando a 5 c. c. Tras enérgica centrifugación, se separan 4 c. c. de líquido claro para la determinación de fosfatasas. Esta se hace como en trabajos anteriores (8), a pH 9,4 y con glicerofosfato sódico como sustrato, pero dada la escasez de la actividad fermentativa encontrada el tiempo de incubación a 38° adoptado es de tres horas.

RESULTADOS

Los valores encontrados se expresan en mg. de P liberables en 3 horas por la fosfatasa total recogida. La tabla reúne los resultados obtenidos con soluciones de glucosa (4 %), arabinosa (3,3 %), glicocola (1,85 %) y ácido oleico, como representantes de los productos de digestión de los principios inmediatos, y con solución de Ringer como término de comparación. Los volúmenes de solución introducidos en cada caso se expresan también en la tabla y varían con la capacidad del intestino del respectivo animal de manera que se consiguiera una repleción media no excesiva.

Las experiencias ponen de manifiesto que la fosfatasa recogida al cabo de las seis horas es más de tres veces mayor con cualquiera de las sustancias nutritivas introducidas en el intestino que con Ringer. Hay pues una evidente respuesta secretora para la glucosa, arabinosa, glicocola y ácido oleico, sin que quepa establecer diferencias en la intensidad de la respuesta provocada por ellas. Tampoco puede afirmarse si la fosfatasa encontrada con el Ringer se debe a una estimulación química de la solución, a una estimulación meramente mecá-

nica, o a que la solución disuelva simplemente fosfatasa residual no arrastrada por el lavado previo.

Estos resultados en ranas son en un todo coincidentes con lo encontrado por LÓPEZ NAVARRO en el cobayo. Sin embargo, la relación de fosfatasa segregada a fosfatasa existente en la

TABLA I

Fosfatasa alcalina presente en el contenido intestinal después de seis horas de la introducción de diferentes soluciones. Resultados en mg. de P liberables por la fosfatasa total recogida en tres horas de hidrólisis.

Peso F.	Solución introducida	Fosfatasa total	Peso g.	Solución introducida	Fosfatasa total
23	0,25 cc. Ringer	0,018	24	0,25 cc. glucosa	0,035
20	0,2 cc. »	0,009	18	0,20 cc. »	0,027
18	0,1 cc. »	0,009	19	0,15 cc. »	0,019
20	0,2 cc. »	0,012	16	0,20 cc. »	0,031
12	0,2 cc. »	0,008	13	0,2 cc. »	0,021
37	0,4 cc. »	0,017	37	0,4 cc. »	0,054
27	0,4 cc. »	0,020	27	0,4 cc. »	0,039
18	0,3 cc. »	0,010	39	0,5 cc. »	0,065
25	0,25 cc. »	0,012	24	0,35 cc. »	0,028
21	0,25 cc. »	0,007	20	0,4 cc. »	0,061
22	0,2 cc. »	0,010	31	0,35 cc. »	0,048
26	0,3 cc. »	0,014		Media	0,039
23	0,25 cc. »	0,016			
22	0,25 cc. »	0,010			
	Media	0,012	37	0,5 cc. arabinosa	0,052
			32	0,4 cc. »	0,061
			18	0,35 cc. »	0,025
26	0,3 cc. Ac. oleico	0,055	22	0,3 cc. »	0,030
23	0,3 cc. »	0,080	29	0,4 cc. »	0,034
33	0,4 cc. »	0,030		Media	0,040
21	0,2 cc. »	0,025			
27	0,2 cc. »	0,062			
20	0,2 cc. »	0,034	24	0,3 cc. glicocola	0,055
	Media	0,047	22	0,3 cc. »	0,050
			23	0,25 cc. »	0,035
			25	0,25 cc. »	0,040
			23	0,25 cc. »	0,027
			28	0,25 cc. »	0,045
				Media	0,042

pared intestinal es en la rana, teniendo en cuenta resultados anteriores (5) de 1/100, mientras que en el cobayo él encontraba 1/20 ; la fosfatasa presente después de glucosa es en la rana tres veces superior a cuando se ha introducido Ringer y en el cobayo es unas cuatro veces superior a la hallada después de ClNa.

En ranas no sometidas a ayuno previo hay mucha mayor secreción de fosfatasa que en las experiencias antes expuestas, incluso en los testigos (Ringer), lo que atribuimos a la persistencia de la secreción por el intenso estímulo previo consistente en un contenido intestinal muy abundante.

Resumen

Se demuestra en *Rana esculenta* (L.), en ayuno, la secreción de fosfatasa alcalina por la mucosa intestinal como respuesta a la introducción en el intestino de soluciones de glucosa, arabinosa, glicocola y ácido oleico. El Ringer provoca en cambio poca o ninguna secreción.

Summary

In fasting frogs (*Rana esculenta* L.) anaesthetized with urethane, after washing the intestinal lumen with Ringer was introduced in the intestine 4 % glucose, 3,3 % arabinose, 1,85 % glycolic acid or Ringer, which remained enclosed between two ligatures out of access of biliar and pancreatic secretions. The animals were then left in liberty. After 6 hours the contents of the intestine was washed out with Ringer for phosphatase determination, using glycerophosphate buffered at pH 9,4 as substrate and incubating 3 hours at 38° C.

With any of the nutritive substances tried was observed a quantity of phosphatase more than three times greater than that collected with Ringer. It demonstrates the existence of an evident secretory response. There are no significant differences in the intensity of such responses according to whatever substance. Within the 6 hours is secreted about 1 % of the phosphatase present in the intestinal wall.

Bibliografía

1. CLEMENTI, A., *Arch. intern. physiol.*, 22, 121. 1923.
2. CLEMENTI, A., *Arch. Farmacol. sper.*, 49, 341, 1930.
3. LEVENE, P. A. y MEDIGRECEANU, *J. Biol. Chem.*, 9, 65, 375. 1911.
4. LÓPEZ NAVARRO, J., *R. esp. Fisiol.*, 2, 211. 1946.
5. PONZ, F., *R. esp. Fisiol.*, 2, 114. 1946.
6. PONZ F., *R. esp. Fisiol.*, 3, 311. 1947.
7. SCHMIDT, R., *Biochem. Z.*, 63, 287. 1914.
8. SOLS, A. y PONZ, F., *R. esp. Fisiol.*, 2, 283. 1946.