

UNIVERSIDAD DE GRANADA  
FACULTAD DE CIENCIAS

TESIS DOCTORAL

SECRECIÓN PANCREÁTICA. EXOCRINA EN  
CABRITOS LACTANTES. EFECTOS DE LA  
EDAD Y DEL TIPO DE ALIMENTO.

JOSE ANTONIO NARANJO RODRIGUEZ  
1988



Biblioteca Universitaria de Granada



01611454



R. 35.654

T  
10  
145

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE GRANADA

Facultad de Ciencias

Fecha 29-6-88

ENTRADA NUM. 1.852

SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA EN CABRITOS LACTANTES.  
EFECTOS DE LA EDAD Y DEL TIPO DE ALIMENTO.



José Antonio Naranjo Rodríguez

BIBLIOTECA
FACULTAD DE CIENCIAS
GRANADA
Estante <u>17</u>
Tabla _____
Núm. <u>39</u>

UNIVERSIDAD DE GRANADA  
1988

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
GRANADA
Nº Documento <u>619587478</u>
Nº Copia <u>1116597X</u>



SECRECION PANCREATICA EXOCRINA EN CABRITOS LACTANTES . EFECTOS DE LA  
EDAD Y DEL TIPO DE ALIMENTO.

MEMORIA presentada para aspirar al  
Grado de Doctor en Ciencias por el  
Ldo. D. José Antonio Naranjo Rodriguez



Fdo.: José Antonio Naranjo Rodriguez

Vº Bº de los Directores

Dr. D. José Mataix Verdú  
Catedrático de Fisiología  
Universidad de Granada



Dr. D. Mariano Mañas Almendros  
Profesor Titular de Fisiología  
Universidad de Granada





Dr. D. José Mataix Verdú, Catedrático de Fisiología de la Universidad de Granada

Dr. D. Mariano Mañas Almendros, Profesor Titular de Fisiología de la Universidad de Granada

**CERTIFICAN:** Que los trabajos de investigación que se exponen en la Memoria de Tesis Doctoral "Secreción pancreática exocrina en cabritos lactantes. Efectos de la edad y del tipo de alimento", han sido realizados bajo nuestra dirección por D. José Antonio Naranjo Rodríguez, en el Departamento de Fisiología de la Universidad de Granada, y corresponden fielmente a los resultados obtenidos. La presente Memoria ha sido revisada por nosotros, y la encontramos conforme para ser presentada y aspirar al Grado de Doctor en Ciencias por el Tribunal que en su día se designe.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, extendemos el presente, con fecha veintisiete de Junio de mil novecientos ochenta y ocho.



Esta Memoria de Tesis Doctoral forma parte del Proyecto de Investigación subvencionado por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica Nº 565 con título: " Estudio de la lactancia artificial en ganado cabrío. Bases fisiológicas y zootécnicas ".



Con estas lineas quiero expresar mi agradecimiento

A D. José Mataix, por haberme acogido en el Departamento y dirigido esta Memoria.

A Toñy, Mariano y Emilio, que me han enseñado todo lo que sé y porque con su amistad y entrega han hecho posible la realización de esta Tesis.

A M<sup>a</sup> José, Juan Ignacio y Antonio, por su desinteresada ayuda en la parte experimental de esta Tesis y porque con su cariño me han alentado en todo momento.

A Miguel, por haberme iniciado en el mundo de la Investigación.

A mi primo Antonio y a mis hermanas, por haber confiado en mí y porque gracias a ellos he podido llegar hasta aquí.

A Luisa, por haberme ayudado y reconfortado con su cariño en los momentos difíciles.

Al Ministerio de Educación y Ciencias por la concesión de una Beca de Investigación.

Y por último, a todos mis compañeros del Departamento y a todos aquellos que de alguna manera han hecho más agradable estos años de trabajo.



*A mi Mujer*

*A mis Padres*



## INDICE

1.- OBJETO.....	1
2.- ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.....	5
2.1.- Anatomía funcional del páncreas en rumiantes.....	6
2.2.- Desarrollo postnatal de la función exocrina del páncreas.....	7
2.2.1.- Secreción de fluido.....	9
2.2.2.- Secreción de enzimas.....	10
2.2.2.1.- Actividad proteolítica.....	10
2.2.2.2.- Actividad lipolítica.....	13
2.2.2.3.- Actividad amilolítica.....	14
2.2.3.- Hormonas gastrointestinales.....	15
2.3.- Secreción pancreática en rumiantes. Influencia del tipo de alimento.....	19
2.3.1.- Técnicas para el estudio de la secreción pancreática en rumiantes.....	19
2.3.2.- Secreción de fluidos y enzimas.....	20
2.3.3.- Control de la secreción pancreática. Influencias hormonales.....	25
2.3.3.1.- Respuesta a la comida.....	25
2.3.3.2.- Respuesta a la administración de péptidos gastrointestinales.....	29
2.3.4.- Control de la secreción pancreática. Influencias nerviosas.....	30



3.- MATERIAL Y METODOS.....	33
3.1.- Diseño experimental.....	34
3.1.1.- Experimentos crónicos.....	34
3.1.2.- Experimentos agudos.....	35
3.2.- Animales y dietas.....	35
3.2.1.- Animales.....	35
3.2.2.- Dietas utilizadas.....	36
3.3.- Preparaciones quirúrgicas.....	36
3.3.1.- Experimentos crónicos.....	36
3.3.1.1.- Preoperatorio.....	36
3.3.1.2.- Operatorio.....	37
3.3.1.3.- Postoperatorio.....	38
3.3.1.4.- Controles postmortem.....	38
3.3.2.- Experimentos agudos.....	40
3.4.- Desarrollo de los experimentos.....	42
3.4.1.- Experimentos crónicos.....	42
3.4.2.- Experimentos agudos.....	44
3.5.- Técnicas analíticas.....	44
3.5.1.- Para el jugo pancreático.....	44
3.5.1.1.- Determinación de bicarbonato.....	44
3.5.1.2.- Determinación de cloruros.....	44
3.5.1.3.- Proteínas totales.....	46
3.5.1.4.- Actividad amilásica.....	46
3.5.1.5.- Actividad quimiotripsica.....	46
3.5.1.6.- Actividad lipásica.....	47



3.5.2.- Para las dietas.....	47
3.5.2.1.- Preparación de las muestras.....	47
3.5.2.2.- Determinación de materia seca.....	48
3.5.2.3.- Determinación de nitrógeno.....	48
3.5.2.4.- Determinación de grasa.....	49
3.5.2.5.- Minerales totales.....	49
3.5.2.6.- Materia orgánica.....	49
3.6.- Tratamiento estadístico.....	49
4.- RESULTADOS.....	51
5.- DISCUSION DE LOS RESULTADOS.....	100
5.1.- Preparación quirúrgica.....	101
5.2.- Sobre la secreción pancreática en cabritos lactantes. Influencia de la edad.....	103
5.2.1.- Secreción de reposo.....	104
5.2.2.- Respuesta a la comida.....	107
5.3.- Sobre la secreción pancreática en cabritos lactantes. Influencia del tipo de alimento.....	113
5.3.1.- Secreción de reposo.....	113
5.3.2.- Respuesta a la comida.....	114
5.4.- Interrelaciones edad-tipo de alimento.....	117
6.- CONCLUSIONES.....	118
7.- BIBLIOGRAFIA.....	121



-----OBJETO-----



En los últimos años las investigaciones en ganadería caprina han cubierto un amplio espectro acerca de tópicos necesarios para orientar con racionalidad los diferentes sistemas de explotación en áreas o ecosistemas definidos. No obstante, los estudios relacionados con los jóvenes caprinos distan mucho de satisfacer los interrogantes que actualmente existen sobre aspectos nutricionales y digestivos, de tanto interés en esta etapa de la vida del rumiante.

Desde hace años el Departamento de Fisiología de la Universidad de Granada y la Unidad Estructural de Fisiología Animal de la Estación Experimental del Zaidín del C.S.I.C. vienen dedicando un especial interés al estudio de la cabra de raza "granadina", lo que ha dado lugar a diversos trabajos así como a la realización conjunta de un Proyecto de Investigación que ha sido subvencionado por la CAICYT.

Entre los objetivos del citado proyecto figuraba el llevar a cabo un estudio básico de la fisiología digestiva y metabólica de este animal en las primeras etapas de su vida, y ello considerando las alternativas de alimentación natural y sustitutos de ésta, dada la ausencia de información científica al respecto. Todo ello redundaría en un mejor aprovechamiento de la producción láctea de esta raza en el marco de una región como Andalucía que ostenta el 35% del censo nacional.

Dos fueron los motivos que llevaron a la selección de la cabra "granadina" para realizar estos trabajos: las destacadas cualidades zootécnicas de esta raza perfectamente identificada con ese medio en el que se encuentran los recursos básicos para su excelente producción, y su alta rentabilidad dentro del ámbito ganadero como consecuencia de los niveles alcanzados en cuanto a producción láctea y el elevado precio de la misma. Todo ello hace muy aconsejable la



consideración de este tipo de estudios sobre el empleo de sustitutos de la leche materna, que permitiría poner a la venta unos 40-50 litros de leche por cría.

La presente Memoria de Tesis Doctoral, incluida dentro de este Proyecto de Investigación, se ha centrado en el estudio de la secreción pancreática exocrina. Entre las secreciones digestivas, es sin duda la secreción del páncreas exocrino la que reviste una mayor importancia, si consideramos su papel relevante en la digestión y por tanto en la utilización del alimento ingerido. Además, los lactorreemplazantes utilizados tienen una composición distinta, tanto cualitativa como cuantitativa, a la leche de cabra, lo que podría dar lugar a diferentes respuestas pancreáticas que sin duda llegarían a repercutir sobre el aprovechamiento nutritivo de los sustitutos lácteos empleados. Por otra parte, en esta etapa de la vida de los rumiantes se opera un cambio importante en su fisiología digestiva que de alguna forma podría afectarse por el tipo de alimento ingerido.

Dentro del estudio de la secreción pancreática exocrina, los objetivos concretos planteados en esta Memoria podríamos resumirlos en:

- Diseñar el modelo experimental idoneo para el estudio de dicha secreción, en animales conscientes durante la etapa de prerumiante.
- Estudiar la secreción de reposo del jugo pancreático en lo que se refiere a flujo y composición.
- Conocer la respuesta pancreática a la ingesta del alimento, considerando al mismo tiempo el posible efecto que el tipo de alimento, leche o lactorreemplazante, pudiera ejercer sobre la secreción del páncreas exocrino.
- Intentar averiguar los posibles cambios en dicha secreción durante el desarrollo ontogenético del animal así como la influencia que a tal efecto pudiera tener el tipo de alimento.



Todo lo expuesto justificaría la realización de esta Memoria, cuyo objetivo final sería colaborar a sentar las bases fisiológicas necesarias para adquirir un buen conocimiento de la capacidad digestiva y metabólica del cabrito. Este conocimiento de la fisiología digestiva básica, que no ha sido estudiada hasta la fecha, ayudaría a abordar con objetividad los problemas concernientes a la alimentación de estos animales y permitiría la preparación de lactorreemplazantes adecuados a dicha capacidad.



-----ANTECEDENTES-----  
BIBLIOGRAFICOS



## 2.1.- Anatomía funcional del páncreas en rumiantes

El páncreas de los rumiantes es de forma irregular y se halla situado a la derecha del plano medio, cubierto en una gran extensión por el peritonéo; se fija al hígado por fuera de la cisura portal y a los pilares del diafragma. Por el lado derecho, se extiende hacia atrás más allá del lóbulo caudal del hígado, relacionándose dorsalmente con el riñón derecho y, por su borde ventrolateral con la porción retrógrada del duodeno; la cara ventral está en contacto con la curvatura dorsal de la panza y el intestino, existiendo aquí una escotadura profunda para la vena porta y la arteria hepática, así como numerosos ganglios linfáticos.

El conducto pancreático, en la vaca, penetra en el duodeno unos 30 cm más hacia atrás que el conducto biliar, mientras que en la oveja y en la cabra, dicho conducto desemboca en el conducto biliar común (Sissons y Grossman, 1963; Capple y Heath, 1975; Krahmer y Schröder, 1976). Dicho conducto pancreato-biliar atraviesa la región del duodeno, y durante la mayor parte del paso a través de la pared duodenal, el conducto y la papila están rodeados por un complejo de fibras musculares lisas, el esfínter de Oddi. Existen discrepancias sobre la presencia de un esfínter independiente, pero la mayoría de las opiniones apoyan la existencia de un esfínter anatómicamente distinto, que es funcionalmente independiente de la musculatura duodenal (Oddi, 1887; Hand, 1973).

La irrigación arterial tiene su origen en las ramas de la arteria esplénica que forman arcos con ramas de las arterias gastroduodenal y mesentérica superior (Michels, 1953). Las fibras nerviosas entran en el páncreas a través de ramas de los nervios vagos y esplácnicos (Hecker, 1974).

El páncreas es una glandula mixta, endocrina-exocrina, constituyendo la porción exocrina el mayor volumen (84%). Las células ductulares y los vasos sanguíneos componen cerca del 4% del



volumen glandular, mientras que las células endocrinas comprenden el 2%; el resto, lo ocupa la matriz extracelular (Gorelich y Jamieson, 1981).

La secreción pancreática exocrina puede clasificarse en basal ó estimulada. En animales en ayunas, la secreción de reposo es mantenida, y su volumen varía según las especies; esta secreción es debida tanto a la actividad intrínseca del páncreas, como a un determinado nivel de actividad neurohormonal. La secreción estimulada, lo es en respuesta a la comida, siendo regulada por factores nerviosos y hormonales (Singh y Webster, 1978).

## 2.2.- Desarrollo postnatal de la función exocrina del páncreas

Es conocido que la alimentación de los mamíferos va cambiando en las primeras etapas de su vida , desde una dieta líquida, en concreto leche materna, hasta una dieta exclusivamente sólida; no obstante, este cambio no se produce de una forma brusca sino de una manera gradual. Durante un periodo de tiempo más o menos extenso, dependiendo de las especies, disminuye paulatinamente el consumo de leche y aumenta la cantidad de alimento sólido ingerido. En los rumiantes, este periodo recibe el nombre de etapa de transición, ya que en estas especies, no solo cambian los hábitos alimentarios sino que tienen lugar una serie de cambios anatómicos y funcionales del sistema digestivo. Entre los anatómicos destaca un notable desarrollo de los preestómagos, rumen, retículo y omaso en detrimento del estómago propiamente dicho ó abomaso. De gran relevancia en la fisiología digestiva de estos animales es la pérdida en importancia del denominado reflejo del surco esofágico, que ocurre en la mencionada etapa de transición; este hecho provocará el que los líquidos ingeridos vayan penetrando cada vez más directamente en la cavidad de los preestómagos y no alcancen primero el abomaso como ocurre en la etapa de prerrumiantes (Lawlor y Hopkins, 1971).



Inmediatamente después del nacimiento, el joven mamífero se alimenta de leche materna cuya composición, en grasa, proteína y minerales varía según las especies (Evan, 1959); sin embargo, y a pesar de las diferencias interespecíficas, podemos decir que, en general, la leche es rica en proteína y grasa, y que contiene lactosa como único carbohidrato.

La edad a la que estos animales empiezan a consumir alimentos sólidos varía según las especies, siendo de 15 a 18 días en la rata (Corring y Aumaitre, 1970); 18 a 21 días en el conejo (Lebas y col., 1978); 40 días en el cordero (Guilloteau y Toullec, 1983); 3 meses en el ternero (Aliev y Garanina, 1984) y 30 días en la cabra, especie objeto de nuestro trabajo. Este cambio en la alimentación, que corre paralelo con la edad del animal, va a ir acompañado de un desarrollo de las funciones digestivas en general, si bien, dado el tema objeto de estudio de esta Memoria de Tesis Doctoral, en los apartados siguientes nos centraremos fundamentalmente en la descripción de los cambios ontogenéticos relacionados con la función pancreática exocrina y su regulación. En general, la bibliografía existente al respecto en los prerruminates, pone de manifiesto que en la gran mayoría de los casos el animal de experimentación elegido ha sido el ternero, la oveja ó el cordero, existiendo muy poca información sobre la cabra.

La secreción pancreática exocrina presenta dos componentes distintos: uno hidroelectrolítico, que constituye la mayor parte del volumen secretado por el páncreas, y otro enzimático. Por consiguiente, el jugo pancreático representa una mezcla de estos componentes en proporciones variables, dependiendo éstas del tipo de regulación, ya sea nerviosa u hormonal, a que se vea sometido el páncreas exocrino.



### 2.2.1.- Secreción de fluido

En todas las especies de prerrumintes estudiadas, y a partir de los dos primeros días de vida, tanto el peso del páncreas (Walker y col., 1959; Huber y col., 1961; Guilloteau y col., 1983) como la secreción de jugo pancreático (Ternouth y Siddons, 1971; Ternouth y col., 1976; Guilloteau y col., 1983; Gusakov y Kuryshka, 1985) se ven incrementados con la edad del animal, siendo la secreción pancreática de fluido mínima al nacimiento, al menos en terneros (Aliev y Garanina, 1982). No obstante, y de acuerdo con los trabajos realizados en terneros por Aliev y Garanina en 1984, el volumen de jugo pancreático no aumenta de forma paralela con el incremento de peso del páncreas sino que lo hace de acuerdo con los cambios que se van introduciendo en la dieta y con las modificaciones paralelas, que ocurren en los procesos metabólicos. Así, el volumen de jugo pancreático secretado por los terneros, expresado en relación al peso del páncreas, alcanza un máximo a los 10 días de vida del animal para decrecer, de forma paulatina, posteriormente; sin embargo, si dicho volumen de fluido se expresa en relación al peso corporal, se produce un aumento de la secreción paralelo al de la edad del animal, lo que está de acuerdo con trabajos previos de Davicco y col. (1979), realizados en la misma especie. Por otra parte, a los 3 meses de edad, y al cambiar a una dieta vegetal, el volumen de secreción, expresado en función del peso corporal, sigue aumentando, mientras que se estabiliza el valor de dicha secreción cuando se expresa en relación al peso de la glándula.

Por otra parte, es sabido que el pH del contenido gástrico está íntimamente relacionado con la función exocrina del páncreas, al menos en lo que se refiere a la regulación de su secreción, por lo que, cambios en dicho parámetro podrían explicar, al menos en parte, la evolución que sufre la secreción pancreática exocrina a lo largo de la vida del animal. Es por ello, que describiremos brevemente los cambios que experimenta el mencionado parámetro en el contenido gástrico a lo largo del desarrollo de diferentes especies.



Así, en la rata, Garzon y col. (1981) encuentran que el valor del pH del contenido gástrico es de 6 hasta el día 20 después del nacimiento y luego disminuye hasta valores por debajo de 4 a partir del día 21. Por su parte, Ikesaki y Johnson (1983) afinan aún más y muestran que dicho pH tiene un valor de 6 entre los días 5 y 10; de 4 a partir del día 15, y de 2.5 después del destete. Por lo que se refiere a los rumiantes, Guilloteau y Toullec (1983), en corderos recién nacidos, encuentran valores medios de 5.8 para el pH de la digesta abomasal; dichos valores se reducen a los dos días después del nacimiento, hasta alcanzar un pH de 3. Por su parte, Ternouth y col. (1973) observan, en terneros, un fuerte incremento (alrededor del 50%) en la secreción de ácido entre la primera y cuarta semana de vida del animal; a partir de aquí, la secreción de ácido sigue aumentando aunque de forma más ligera.

#### 2.2.2.- Secreción de enzimas

En general, en todas las especies de mamíferos estudiadas, tanto monogástricos como rumiantes, el neonato no tiene aún totalmente desarrollado el sistema de enzimas digestivos (Auricchio y col., 1965; Thivend y col., 1980). En el momento del nacimiento, la actividad de dichas enzimas es baja, si bien, tanto la concentración de proteínas totales como la de las distintas enzimas pancreáticas se incrementan, posteriormente, con la edad del animal (Gorrill y col., 1968; Ternouth y col., 1976; Davicco y col., 1979; Corring y col., 1982; Guilloteau y Toullec, 1983; Gusakov y Kuryshka, 1985).

##### 2.2.2.1.- Actividad proteolítica

En todas las especies estudiadas, ya en el momento del nacimiento, el páncreas posee cierta actividad proteolítica; dicha



actividad, que es baja para las diferentes enzimas pancreáticas, se incrementa con la edad el animal. Diversos estudios llevados a cabo en rata (Corring y Aumaitre, 1970; Robberecht y col., 1971), conejo (Lebas y col., 1971) y cerdo (Corring y col., 1978), muestran que el desarrollo de la actividad proteolítica total del páncreas se lleva a cabo en dos etapas: En una primera etapa, que se correspondería con los primeros días de vida del animal, las actividades de las distintas enzimas proteolíticas se mantienen relativamente bajas, mientras que en una segunda etapa, se produce un gran aumento de dichas actividades; según las especies, varía la edad en que se producen estos incrementos, siendo de: 15-18 días en la rata; 18-21 días en el conejo y 21-28 días en el cerdo. Por lo que se refiere a los prerrumiantes, pueden observarse ciertas diferencias; así, en el ternero, las enzimas proteolíticas son segregadas a niveles relativamente altos durante los primeros días de vida del animal, siendo los incrementos posteriores poco importantes (Ternouth y Siddons, 1971). Algo parecido ocurre con el cordero, en el cual, a partir de los 7 días de edad, se produce un incremento generalizado de todas las proteasas (Gorrill y col., 1968). De entre todas las enzimas proteolíticas estudiadas, dos son las que aparecen como más relevantes durante la lactancia: tripsina y quimiotripsina, si bien esta última parece tener un papel más importante. En estudios realizados por Brown y Perry (1981) y Guilloteau y Toullec (1983), se pone de manifiesto que la actividad de la quimiotripsina predomina frente a la de la tripsina cuando el animal es joven; no obstante, la relación quimiotripsina:tripsina decrece conforme avanza la edad del animal. Sin embargo, no parece ser ésto un comportamiento general de los rumiantes lactantes. En 1976 Ternouth y col., observaron en terneros jóvenes un comportamiento opuesto al antes citado ya que era la quimiotripsina la enzima que más se incrementaba con la edad del animal.



De igual forma, no existe una respuesta uniforme en los mamíferos monogástricos; así, mientras que el cerdo (Corring y col., 1978) y el conejo (Lebas y col., 1971) muestran cambios relacionados con la edad en la actividad de estas enzimas proteolíticas, en la rata (Corring y Aumaitre, 1970) no parecen existir diferencias en las actividades de ambas enzimas. Por su parte, en el niño lactante, no se producen cambios en la actividad tripsina, siendo ésta prácticamente igual a la del adulto, pero no así en la quimiotripsina cuyo valor es solo del 50-60% del que alcanza en el individuo adulto (Norman y col., 1972).

Hasta ahora hemos descrito lo que ocurre con las enzimas proteolíticas durante la etapa de lactancia ¿pero qué ocurre cuando tiene lugar el destete? En ese momento crucial en la alimentación del individuo, de nuevo nos encontramos con reacciones muy diversas, según las especies consideradas. En la rata (Corring y Aumaitre, 1970; Snook, 1971) y en el cerdo (Corring y col., 1978), se produce un aumento drástico de ambas enzimas, tripsina y quimiotripsina, si bien en el cerdo el incremento en la actividad tripsina tarda en aparecer y solo muestra un pronunciado ascenso a partir de la sexta semana de vida. Por su parte, en el conejo (Lebas y col., 1971) solo se observa un aumento considerable de la quimiotripsina, sin que se modifique de manera apreciable la actividad tripsina.

En cuanto a los ensayos llevados a cabo en rumiantes, Aliev y Garanina (1981) encuentran en terneros que, aunque en esta etapa se produce un aumento generalizado de la actividad proteolítica global, dicho incremento en las distintas actividades enzimáticas se desarrolla lentamente. También en la oveja se ha descrito un incremento de la actividad proteolítica total durante la etapa de transición, duplicándose los valores de quimiotripsina y triplicándose los de tripsina, con respecto a los valores obtenidos en el animal lactante (Guilloteau y col., 1983).



#### 2.2.2.2.- Actividad lipolítica

La mayor parte de los lípidos de la dieta son hidrolizados en duodeno por la lipasa pancreática. Esta enzima está ya presente en los animales recién nacidos, tales como la rata (Corring y Aumaitre, 1970; Snook, 1971), conejo (lebas y col., 1971) y cerdo (Corring y col., 1978), y su actividad se incrementa ligeramente durante el periodo de la lactancia, si bien tras el destete dicha actividad aumenta de manera significativa (Rokos y col., 1963; Deschodt-Lanckman y col., 1974). Esta actividad, si la comparamos con la proteolítica, es sin embargo pequeña, por lo que cabría suponer que los lípidos de la leche se absorberían sin una hidrólisis previa. Son varias las hipótesis enunciadas con el fin de dar una explicación más o menos verosímil a este hecho. Una de las hipótesis, la más probable, supone que la grasa de la dieta láctea, al igual que las proteínas, sea captada por los enterocitos y transportada, intacta, a través de los conductos linfáticos ó bien que sea sometida a una digestión intracelular. De hecho, se ha observado (Hahn y Koldosky, 1966) que los enterocitos de la rata, contienen una mayor cantidad de inclusiones lipídicas durante la lactancia que después del destete. Otras hipótesis son, la dada por Robberecht y col. (1971), que achacan esta baja concentración de lipasa a una inmadurez en el material genético correspondiente, y la apuntada por Beare y col. (1961) que lo atribuye a un pobre efecto inductor de los ácidos grasos saturados de cadena corta presentes en la leche de rata. De una forma similar, los estudios realizados por Norman y col. (1972) en niños de un mes de edad, pusieron de manifiesto que la cantidad de lipasa presente en el fluido duodenal es muy pequeña y que solo se alcanzan los niveles presentes en el adulto a los 2 años de vida del niño. Esta débil actividad lipásica en el recién nacido, y lactante de 1 mes, parece, no obstante, suficiente para llevar a cabo una lipólisis adecuada, ya que ésta se vería compensada por la acción de la lipasa existente en la leche materna y en la saliva del niño; sin embargo, existen



evidencias de que en el recién nacido la fase intraluminal de la absorción lipídica es incompleta.

Por lo que se refiere a los animales prerrumiantes, tanto la oveja (Ulbrish y col., 1981) como en el ternero (Huber y col., 1961a; Roy y Stobo, 1975; Ternouth y col., 1976), el comportamiento de dicha enzima difiere ligeramente del comentado anteriormente para los animales monogástricos, ya que la actividad de la lipasa es elevada en el momento del nacimiento, descendiendo en los primeros días de vida del animal, para posteriormente ir incrementándose con la edad del animal, siendo este aumento más rápido que el de los enzimas proteolíticos.

#### 2.2.2.3.- Actividad amilolítica

La hidrólisis de los carbohidratos es llevada a cabo por la amilasa de origen pancreático y por las disacaridasas del borde en cepillo del enterocito. Tanto en la rata (Proschka y col., 1964; Snook, 1971) como en el cerdo (Owsley y col., 1986), al igual que ocurre con las enzimas proteolíticas y lipolíticas, en el páncreas del joven mamífero, parecen existir dos etapas en el desarrollo de la actividad amilásica. Durante el periodo de la lactancia, los niveles de amilasa son bajos y se van incrementando, ligeramente, con la edad del animal, alcanzando niveles significativamente más altos a los 18 días en la rata, 21 días en el conejo y a las 3 semanas en el cerdo, momento en que la dieta ofertada es más rica en carbohidratos complejos. En el niño lactante, de menos de 1 año, la cantidad de amilasa es, al igual que en los casos anteriores, muy pequeña, siendo 10 veces menor que en el adulto (Klump y Neale, 1930; Auricchio y col., 1965).

En los prerrumiantes, la actividad amilásica sigue el mismo comportamiento comentado para los animales monogástricos (Leat, 1971). Así, en el ternero, la concentración de esta enzima en el jugo pancreático es mínima a los 7 días de edad (Dollard y Porter,



1957; Huber y col., 1961b; Morrill y col., 1970), elevándose considerablemente a los 21 y 63 días de vida del animal (Morrill y col., 1970; Ternouth y Siddons, 1971). Datos similares han sido puestos de manifiesto por Ulbrish y col. (1981) en la oveja y por Guilloteau y col. (1983) en el cordero.

Esta baja actividad amilásica encontrada de forma generalizada, en todos los mamíferos monogástricos y ruminantes, durante el periodo de la lactancia se debe sin duda a la ausencia de almidón en la dieta de estos animales. Dicho componente aparece paulatinamente en la alimentación del animal, desde el destete hasta la etapa en que se le considera adulto, momento en que la lactosa es sustituida totalmente por almidón, y por tanto, la amilasa irá aumentando conforme lo hacen las cantidades de su sustrato.

### 2.2.3.- Hormonas gastrointestinales

El desarrollo de las enzimas digestivas, entre el nacimiento y el destete, parece estar sometido a un mecanismo endógeno de regulación, probablemente de origen hormonal; sin embargo, son pocos los estudios realizados a cerca de la evolución con la edad de las distintas hormonas gastrointestinales en monogástricos lactantes y prerruminantes. Dichos estudios se refieren sobre todo a somatostatina, secretina, colecistoquinina (CCK), péptido intestinal vasoactivo (VIP) y gastrina; no obstante, la diferente metodología empleada hace difícil poder unificar los resultados obtenidos en las distintas especies estudiadas.

Mediante estudios inmunocitoquímicos (Larsson y Jorgensen, 1978), de radioinmunoensayo (Noyer y col., 1980) y bioensayo (Brand, 1982), se ha podido comprobar que el intestino delgado de la rata recién nacida contiene CCK, la cual se localiza en las células de la mucosa. Este contenido celular de CCK sufre un gran incremento entre los 8 y 15 días post-parto, para luego decrecer de forma gradual



durante las siguientes semanas hasta que se alcanzan valores propios del animal adulto (Noyer y col., 1980). Por lo que se refiere a la secretina, Paquette y col. (1982) encuentran que tanto en la mucosa del intestino delgado proximal como del intestino delgado distal de la rata, se produce un descenso en el contenido celular de la hormona entre el segundo y sexto día después del nacimiento; dicho contenido se mantiene, con ligeras oscilaciones, hasta el día 15, momento en que se produce el destete. A partir de ese momento, las células de la mucosa duodenal incrementan extraordinariamente su contenido en secretina hasta alcanzar los valores detectados en la rata adulta.

Por otra parte, Ruckebush y col. (1983) y Guilloteau y col. (1984, 1986) estudian en el ternero la evolución que siguen los niveles plasmáticos de distintas hormonas gastrointestinales desde el nacimiento hasta el destete. Así, secretina, CCK y VIP no muestran variación en sus niveles basales (15 pg/ml, 25 pg/ml y 20 pg/ml, respectivamente) durante las primeras 24 horas de vida del animal. Sin embargo, la somatostatina se ve sometida a ligeras fluctuaciones: Sus niveles sanguíneos se elevan durante las cinco primeras horas, disminuyendo entre las 11 y 16 horas, para luego estabilizarse en valores de aproximadamente 30 pg/ml. Es durante las tres primeras semanas de vida cuando alguna de las hormonas mencionadas sufren incrementos significativos; la secretina alcanza valores de 30 pg/ml a los 20 días de vida del animal (Guilloteau y col., 1984), a la misma edad la CCK se eleva hasta 80pg/ml (Guilloteau y col., 1986), y la somatostatina alcanza, a los 15 días, un máximo de 66 pg/ml aunque desciende a valores medios de 42 pg/ml a los 20 días (Ruckebush y col., 1983). Cuando tiene lugar el destete, de nuevo se producen cambios en los niveles plasmáticos de las hormonas estudiadas; así, los niveles de CCK y VIP alcanzan valores más elevados (Ruckebush y col., 1983; Guilloteau y col., 1986), los de somatostatina desciende (Ruckebush y col., 1983), mientras que los de secretina, ó bien sufre ligeros descensos (Ruckebush y col., 1983) ó no se modifican (Guilloteau y col., 1984).



Por lo que se refiere a la gastrina, se ha descrito una hipergastrinemia neonatal tanto en el niño (Rogers y col., 1974; Sann y col., 1975; Euler y col., 1977; Euler y col., 1979; Moazam y col., 1984) como en diferentes especies de monogástricos tales como, la rata (Takeushi y col., 1981; Johnson, 1984) y el perro (Malloy y col., 1979), así como en rumiantes como el ternero (Guilloteau y col., 1985) y la oveja (Lichtenberger y col., 1981; Shulkes y Hardy, 1982). Esta hipergastrinemia del recién nacido, que probablemente no se deba a gastrina de origen materno que pase a través de la placenta, es sin embargo transitoria, alcanzandose niveles séricos de la hormona similares a los existentes en el adulto en un periodo más o menos prolongado dependiendo de las especies.

Así, en el niño, los valores de gastrina permanecen más altos que los del adulto durante los 4 primeros meses de vida, siendo estos niveles elevados, estadísticamente significativos hasta los 2 meses de edad (Moazan y col., 1984). En la rata, los niveles elevados de gastrina al nacimiento, descienden de forma brusca a los 18-21 días de edad, coincidiendo con el destete, para luego alcanzar los niveles propios del animal adulto a los 40 días (Takeushi y col., 1981). En el perro, la hipergastrinemia neonatal se mantiene, con ligeras oscilaciones, hasta los 9 días de edad en que alcanza un máximo, para luego descender y elevarse de nuevo entre la tercera y sexta semana de vida del animal (Malloy y col., 1979). El ternero, por su parte, presenta una disminución en los niveles de gastrina a lo largo de las 4 primeras semanas de vida (103 pg/ml al nacimiento frente a 33 pg/ml a la edad de 28 días), aumentando en la siguiente semana hasta alcanzar un valor de 58 pg/ml, valor en el que se estabiliza, incrementandose de nuevo ligeramente en el momento del destete (Guilloteau y col., 1985). Por el contrario, en la oveja, la hipergastrinemia neonatal alcanza un máximo en la cuarta semana de vida, descendiendo dichos valores a partir de esa edad hasta alcanzar los valores del animal adulto (Lichtenberger y col., 1981).

Existe un gran numero de hipótesis para dar una explicación a esta hipergastrinemia en los animales recién nacidos. Lichtenberger



(1984) sugiere, que el alto contenido en proteínas y calcio de la dieta de estos animales debe de jugar algún papel ya que ambas son sustancias liberadoras de gastrina. Esto sin embargo parece poco probable dado que, en el niño esta hipergastrinemia desaparece mucho antes de que tengan lugar cambios en la dieta (Euler y col., 1977; Euler y col., 1979), y en la rata los niveles de gastrina disminuyen incluso cuando se retrasa el destete (Peitsh y col., 1981; Takeushi y col., 1981). Otra posible explicación es la indicada por Johnson (1985) quien atribuye estos altos niveles séricos de la hormona a la ausencia de mecanismos inhibidores de la secreción de gastrina debido a que, en la mayoría de las especies, en el neonato existe una hiposecreción de ácido en la mucosa gástrica (Euler y col., 1977; Malloy y col., 1979; Takeushi y col., 1981; Johnson, 1985). No obstante, es importante subrayar que tanto en la rata como en el niño, esta hipergastrinemia persiste incluso cuando se acidifica el contenido gástrico (Johnson, 1984) ó bien cuando se alcanzan los niveles de ácido propios del animal adulto (Euler y col., 1977, Malloy y col., 1979); algo similar ocurre en la oveja, en la cual los niveles de ácido en el estómago son semejantes a los del adulto a los 3 días de vida (Hill., 1956) y sin embargo, la hipergastrinemia se prolonga hasta los 30 días postnatales. Una explicación más coherente la ofrecen Lichtenberger y col. (1981) y Johnson (1985), quienes atribuyen dicho fenómeno a una falta de desarrollo del mecanismo de inhibición, por el ácido, de la liberación de gastrina, sobre todo a nivel de la respuesta a la somatostatina, hormona mediadora de la inhibición de la secreción de gastrina (Schusdziarra y col., 1978; Larsson y col., 1979; Larsson, 1980). De hecho, Johnson (1984) demostró que la inyección de somatostatina no tenía efecto sobre los niveles séricos de gastrina en ratas de 10 a 15 días de edad, si bien provocaba un descenso en estos niveles en ratas de 18 días. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Koshimuzu (1983) quien pone de manifiesto que en la rata, el contenido de somatostatina de origen gástrico se incrementa gradualmente hasta el momento del destete, que es cuando tiene lugar un gran aumento en dicho contenido; estos resultados, y de acuerdo con Lichtenberger y col.



(1981) y Johnson (1985), podrían explicar de igual forma los datos obtenidos después del destete.

### 2.3.- Secreción pancreática en rumiantes. Influencia del tipo de dieta.

#### 2.3.1.- Técnicas para el estudio de la secreción pancreática en rumiantes

La mayoría de los estudios se han llevado a cabo en la oveja o en el ternero; sin embargo, dada la diferente anatomía del árbol pancreato-biliar en estas dos especies, las técnicas puestas a punto en uno y otro animal, difieren considerablemente.

En el ternero, el conducto pancreático desemboca directamente en duodeno. Por tanto, la mayoría de las técnicas quirúrgicas empleadas para el estudio de la secreción pancreática exocrina, se basan en la inserción de una cánula en el conducto pancreático principal (Gorrill y col., 1967; Mc Cornick y Stewart, 1967). Otra de las técnicas utilizadas es la puesta a punto por Ternouth y Buttle (1973) inspirada en las realizadas por Herrera y col. (1968) en perros y por Aliev (1966) en el ternero. Se basan en la recogida de jugo pancreático a partir de un segmento aislado de duodeno, al cual drena el conducto pancreático principal. La secreción se reingresa al intestino a través de otra cánula en "T" situada en otra porción del duodeno, cercana a la anterior.

En la oveja, al igual que ocurre en la cabra, el conducto pancreático desemboca en el conducto biliar común. Es por ello, que la mayoría de las técnicas quirúrgicas utilizadas para la recogida de jugo pancreático, se basan en el desvío previo de bilis, desde el conducto biliar común hasta el intestino, una vez ligado el primero. Posteriormente, el jugo secretado es recogido mediante una cánula de Thomas colocada en el duodeno (Hill y Taylor, 1957; Taylor, 1960; Phaneuf, 1961) ó bien a través de una cánula situada de forma



permanente en el conducto biliar común (Thompson, 1951; Magee, 1961; Caple y Heath, 1972; Pierzinowski, 1983).

Por otra parte, en la cabra, los únicos trabajos existentes en la bibliografía se refieren a experimentos en los cuales se modifica el sistema pancreato-biliar para el estudio de enfermedades biliares y pancreáticas (Robinson y Dunphy, 1962; Dunphy y Stephens, 1962).

Por último, otro de los métodos empleados para el estudio de la secreción pancreática exocrina en rumiantes, se basa en la obtención de dicha secreción a partir de un homogenado del páncreas (Gorrill y col., 1967; Guilloteau y col., 1976; Guilloteau y col., 1983).

### 2.3.2.- Secreción de fluido y enzimas

Los trabajos realizados acerca de la influencia de la dieta sobre la secreción pancreática exocrina en animales lactantes son escasos; además, resulta en extremo difícil aunar, de una manera clara y concisa, todos los datos encontrados, en la bibliografía consultada, sobre secreción pancreática en respuesta a la comida. Esto se debe a la disparidad en las técnicas quirúrgicas utilizadas, las diferencias en el desarrollo de los experimentos, y, sobre todo, los distintos tipos de dieta empleados para la alimentación de las especies animales objeto de estudio.

La mayor parte de la investigación se ha centrado en el ternero, y solo algunos de los trabajos hacen referencia al cordero y la oveja, no existiendo ningún dato sobre la secreción pancreática exocrina en el cabrito lactante, animal objeto de estudio en esta Memoria de Tesis Doctoral.

Al considerar la respuesta secretora de jugo pancreático, debemos diferenciar claramente dos aspectos: a) respuesta pancreática a la alimentación natural del animal lactante es decir, leche y b) influencia que sobre dicha secreción ejercen distintas manipulaciones de la dieta utilizada, bien sea ésta leche ó un sustituto de la misma; y todo ello



sobre parámetros tales como flujo y concentración de enzimas y electrolitos en el jugo pancreático secretado.

Uno de los primeros trabajos realizados al respecto, fué el de Gorrill y col. (1967) en terneros provistos de una cánula reentrante en el conducto pancreático. En general, los mayores cambios observados, tanto en flujo como en composición, ocurren una hora después de la ingesta de leche: así, el flujo de jugo pancreático, con un valor medio de 0.12 ml/minuto en condiciones basales, se eleva a 0.16 ml/minuto en la primera hora postprandial; de igual forma, se elevan en esta primera hora después de la comida, la concentración de proteínas totales (7.1 y 11.4 mg/ml antes y después de la comida) y la de las enzimas proteolíticas, tripsina (86 y 140 U/ml, respectivamente) y quimiotripsina (14 y 22 U/ml), no sufriendo cambios la concentración de amilasa a lo largo de las 12 horas experimentales.

En la misma línea podemos situar los trabajos posteriores de Ternouth y Buttle (1973) realizados también en terneros. A los siete días de edad, la respuesta a la ingesta de leche es escasa en lo que a volumen secretado se refiere, pero no en cuanto a contenido en enzimas amilolíticas y proteolíticas, las cuales aumentan significativamente a las 10-12 horas después de la comida. La respuesta es más clara a los 24 y 63 días de edad; en ambos casos, el flujo de jugo pancreático se mantiene elevado durante las doce horas postprandiales de duración del ensayo, observándose dos picos de secreción, uno en la primera hora postprandial, y otro entre las seis y doce horas tras la comida. Estos cambios en el volumen de jugo pancreático secretado en respuesta a la ingesta de alimento se acompañan de modificaciones en la concentración de electrolitos, existiendo en todos los casos, y durante todo el periodo experimental, una correlación lineal positiva entre flujo y concentración de bicarbonato y negativa entre flujo y concentración de cloruros. Esta respuesta, tanto en flujo como en concentraciones de electrolitos ( $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_3\text{H}^-$ ) se debería, de acuerdo con Grossman (1969), a la liberación de secretina endógena, y es similar a la encontrada por Mc Cormick y Stewart (1967) en estudios similares realizados también en terneros.



Por lo que se refiere a la utilización de sustitutos de la leche, la mayor parte de la investigación llevada a cabo se refiere a los efectos que sobre la secreción pancreática, tienen la sustitución parcial de la proteína láctea por proteína de origen vegetal, así como los cambios en los niveles de grasa, considerando también en este caso la adición de grasa vegetal.

La sustitución del 60% de la proteína láctea por proteína de soja, produce en los terneros una menor respuesta secretora, tanto en lo que se refiere a flujo como a concentración de enzimas proteolíticas (Gorrill y col., 1967); por el contrario, tanto en el cerdo (Pekas y col., 1966) como en la rata (Roy y Schneeman, 1981; Richter y Shneeman, 1987), la sustitución de caseína por soja produce un mayor flujo de jugo pancreático así como una mayor producción de enzimas proteolíticos. Una de las razones expuestas por los autores para explicar la menor respuesta pancreática a la comida en terneros, es la presencia en la soja de un inhibidor de la tripsina, lo que limitaría la proteólisis y, en consecuencia, daría lugar a una menor secreción de CCK, hecho que no está de acuerdo con lo descrito por Johnson (1981) quien afirma que el inhibidor de la tripsina sería el responsable indirecto de una mayor liberación de CCK, ya que no se estaría produciendo el feed-back negativo llevado a cabo por la tripsina (Andren-Sandberg e Ihse, 1983). No obstante, resultados similares a los obtenidos por Gorrill y col. (1967) fueron hallados por Guilloteau y col. (1986) en la misma especie y utilizando el mismo tipo de lactorreemplazante, asumiendo, que la diferencia existente con la respuesta a la alimentación láctea se debería, en parte, a la presencia en la soja del inhibidor tripsico mencionado. De hecho, la eliminación de gran parte de dicho inhibidor en el lactorreemplazante, elevó los valores de las enzimas proteolíticas pancreáticas (medidas como proteasas totales) a niveles similares a los obtenidos con alimentación natural (leche materna) y muy superiores a los encontrados en los animales alimentados con el sustituto lácteo que contenía el inhibidor tripsico (Gorrill y Thomas, 1967). No obstante, la sustitución parcial de la proteína láctea por proteína de pescado ó



proteína de origen bacteriano, produce en los terneros una respuesta pancreática, en lo que a enzimas proteolíticas se refiere, similar a la obtenida con la proteína de soja (Ternouth y col., 1975; Jenkins y col., 1980; Sedgman y col., 1985), lo que llevó a Guilloteau y col. (1986) a establecer que, a parte del inhibidor tripsico, deben de existir otros factores implicados en la mencionada respuesta del páncreas.

Otra de las razones aducidas por Gorrill y col. (1967) para explicar la menor respuesta pancreática al sustituto lácteo con proteína de soja, se refiere a la existencia en dicho lactorreemplazante de una deficiencia en aminoácidos esenciales para la síntesis proteica, mecanismo por el cual, según Sarles (1977), las enzimas digestivas del páncreas se adaptan a cambios de sus respectivos sustratos en la dieta. Por último, la diarrea sufrida por los terneros alimentados con la soja, es decir, el rápido paso del quimo por el duodeno, limitaría la secreción de hormonas como secretina y CCK, responsables en gran medida de la respuesta pancreática a la comida (Gorrill y col., 1967).

Por lo que se refiere a la lipasa pancreática, los datos existentes son escasos y, además contradictorios. Así, mientras Ternouth y col. (1975) encuentran en terneros que la sustitución en el lactorreemplazante de proteína láctea por soja eleva la producción de dicha enzima, Ulbrish y col. (1981) observan un descenso de la actividad lipásica en el jugo pancreático de los corderos en respuesta al sustituto lácteo. Por su parte, Braude y Newport (1973) ponen de manifiesto que la lipasa pancreática del cerdo lactante actúa principalmente sobre triglicéridos de cadena corta ó media; algo semejante ha sido descrito para el ternero (Edwards-Webb y Thompson, 1977; Toothill, 1982).

Otras manipulaciones realizadas en los sustitutos lácteos se refieren a la cantidad y calidad de la grasa (origen animal ó vegetal) así como a calentamientos más o menos severos que desnaturalizarían en mayor ó menor grado las proteínas de la leche. En esta línea, pueden incluirse los trabajos de Tagory y Roy (1969) y de Ternouth y col. (1974a), quienes partiendo de una leche en polvo desengrasada,



estudiaron en el ternero el efecto que, sobre la secreción pancreática, tenía la adición de grasa vegetal (margarina) así como el calentamiento severo de dicho sustituto lácteo. Los resultados obtenidos por estos autores son, no obstante, bastante confusos; así, el mayor flujo de jugo pancreático se observa en respuesta al lactorreemplazante adicionado de margarina, no encontrando los autores relación entre estos flujos y la secreción de  $H^+$  a duodeno. Por su parte, la cantidad de tripsina secretada no difiere de forma significativa con los tres sustitutos lácteos ensayados, lo que lleva a sugerir a los autores, que la secreción de enzimas proteolíticos parece estar pobremente correlacionada con el flujo duodenal de nitrógeno proteico; así, aunque en las doce horas de periodo experimental, el flujo duodenal de nitrógeno protéico y la actividad proteolítica es máxima para la dieta que contiene grasa vegetal, a las seis horas de ingerir el lactorreemplazante precalentado severamente, el flujo duodenal de nitrógeno protéico es máximo, pero en cambio la actividad proteolítica en el jugo pancreático es mínima. Este hecho llevó a Ternouth y col. (1974a) a suponer que la expulsión de gránulos de zimógeno desde el páncreas exocrino debería estar bajo control neural más que bajo control hormonal entero-pancreático. Estos cambios en la actividad proteolítica total, no asociados con cambios en la actividad trípica, podrían estar relacionados con cambios en la actividad de la quimiotripsina. Por tanto, en las primeras horas postprandiales, la secreción de esta enzima, en respuesta al lactorreemplazante precalentado, debe de ser mínima, como correspondería al mayor flujo duodenal de proteína no digerida encontrado por Tagory y Roy (1969) en terneros alimentados con un sustituto lácteo similar; esta mayor proporción de proteína sin digerir que llega a duodeno se debería, según Williams y col. (1976) y Garnot y col. (1977) a una disminución en la secreción de quimosina y pepsina. Por lo que se refiere a la actividad de la lipasa, los menores valores correspondieron a los animales alimentados con la leche en polvo desengrasada, mientras que los niveles obtenidos con los otros dos sustitutos lácteos ensayados fueron semejantes entre sí.



### 2.3.3.- Control de la secreción pancreática: influencias hormonales

#### 2.3.3.1.- Respuesta a la comida

Secretina: En estudios realizados en terneros de 6-9 semanas de edad, y alimentados con leche o con un sustituto lácteo, en el cual se sustituyó parcialmente la proteína láctea por proteína de pescado, Guilloteau y col. (1984) observaron un descenso significativo de los niveles plasmáticos de secretina una hora después de la comida, probablemente debido al incremento que sufre el pH del contenido duodenal durante ese mismo periodo (Guilloteau y col., 1975); durante las siete horas siguientes, estos valores permanecen estables si bien sufren ligeras oscilaciones. No obstante, aunque el tipo de respuesta a la comida fué similar con uno y otro tipo de alimento, los niveles plasmáticos de la hormona, tanto basales como postprandiales, fueron siempre menores en los animales alimentados con el sustituto lácteo. Este hecho podría deberse a la velocidad del vaciamiento gástrico, mayor en los terneros que ingieren el lactorreemplazante (Guilloteau y col., 1975), y que sin duda redundaría en una menor liberación de ácido a duodeno y por tanto en una disminución de la secreción de secretina endógena (Chey y col., 1981). Este tipo de respuesta a la comida, es decir el descenso en los niveles plasmáticos de secretina que se produce en la primera hora postprandial, persiste hasta que el animal alcanza las ocho semanas de vida y desaparece cuando tiene lugar el destete, tras el cual los niveles pre y postprandiales de secretina se hacen similares, alcanzando la hormona valores intermedios a los encontrados en el prerrumiante. Resultados similares han sido descritos por Guilloteau y col. (1986) en terneros alimentados con un sustituto lácteo en el cual parte de la caseína fué sustituida por proteína de soja.

Por el contrario, los estudios llevados a cabo en corderos por Guilloteau y col. (1983) muestran que entre la cuarta y octava hora postprandial se produce un incremento sostenido en las concentraciones



plasmáticas de esta hormona. Sin embargo, al igual que hemos comentado en el ternero, dentro de la primera hora postprandial los niveles de secretina sufren un ligero descenso para luego ir aumentando progresivamente hasta alcanzar valores máximos, superiores a los basales, a las 4 horas después de la toma del alimento. Con el destete, al igual que ocurría en el ternero, desaparece esa caída en los niveles de la hormona, que tiene lugar en la primera hora postprandial.

**Colecistoquinina:** La toma del alimento implica, en el ternero, un incremento inmediato en los niveles plasmáticos de CCK, que se mantiene, con ligeras fluctuaciones, hasta la cuarta hora postprandial para luego descender y alcanzar los valores basales, durante las cuatro horas restantes (Davicco y col., 1979). Estudios posteriores realizados por Guilloteau y col. (1986<sub>b</sub>), en el mismo animal y con dos tipos de alimento: leche y/o un lactorreemplazante, en el cual se sustituyó parcialmente la proteína láctea por proteína de pescado, pusieron de manifiesto que la comida determina en ambos casos un incremento en los niveles plasmáticos de CCK. No obstante, este incremento se produce antes (30 minutos frente a 1 hora y 30 minutos) y es más acusado en los animales alimentados con el sustituto lácteo, probablemente debido a que la salida de proteínas y grasa a duodeno, es más rápida y cuantiosa con este tipo de alimento (Toullec y col., 1983) lo que estaría favoreciendo una elevación en los niveles de secreción de CCK (Rehfeld, 1980). Los niveles de la hormona vuelven a valores basales a partir de la cuarta hora en los animales alimentados con leche, y a partir de la sexta hora en los que tomaron el lactorreemplazante. Por otra parte, durante la etapa de transición estos incrementos postprandiales, observados en el lactante, se van reduciendo progresivamente hasta desaparecer en el animal adulto. Este hecho podría explicarse por la existencia, en los animales en transición, de un flujo duodenal más continuo debido al desarrollo de los preestómagos (Harrison y Leat, 1975).



En un trabajo posterior, Guilloteau y col. (1986a) ensayan en terneros un lactorreemplazante a base de proteína de soja, y ponen de manifiesto que, una vez más, los niveles postprandiales de CCK son más elevados en los animales alimentados con el sustituto lácteo (2,4 veces mayor), siempre frente a los valores que presentan los animales con alimentación natural (leche materna).

**Gastrina:** El trabajo desarrollado por Guilloteau y col. (1985) en el ternero, pone de manifiesto que la toma del alimento, ya sea leche o un sustituto lácteo (desprovisto de caseína y rico en hidrolizado de pescado), provoca un fuerte aumento de los niveles séricos de gastrina; posteriormente, estos valores de la hormona permanecen más ó menos constantes hasta la sexta hora después de la comida, con el sustituto lácteo, mientras que disminuye paulatinamente en los animales alimentados con leche. No obstante, con el lactorreemplazante, los niveles de gastrina circulante son menores que los alcanzados con la alimentación láctea, tanto antes de la comida como después de la sexta hora postprandial (0.7 y 0.5 veces menor, respectivamente). Resultados similares fueron descritos anteriormente por Bloom y col. (1978) en terneros alimentados con leche, en los que los niveles de gastrina se mantenían elevados, con respecto a los basales, al menos 2 horas después de la toma del alimento. Por otra parte, tras el destete, no se observaron diferencias entre los niveles pre y postprandiales de la hormona (Guilloteau y col., 1985).

Posteriormente, Guilloteau y col. (1986b) encuentran que en los terneros alimentados con un sustituto lácteo rico en proteína de soja, se produce un incremento en los niveles de gastrina en la primera hora postprandial; sin embargo, estos niveles no difieren de los hallados en los animales alimentados con la dieta control (leche). Por otra parte, la utilización de un nuevo lactorreemplazante en el que las proteínas son aportadas por un concentrado proteico de suero lácteo sin caseinomacropéptido (CMP), produce, en el ternero, una respuesta



similar: la concentración plasmática de gastrina se eleva considerablemente durante las 3 primeras horas postprandiales (del orden de 5 veces) ; dichos niveles van disminuyendo progresivamente hasta la septima hora postprandial (Guilloteau y col., 1987).

En niños lactantes se observa un comportamiento similar al comentado para los terneros alimentados con leche. Así, Gonzalez y col. (1983) ponen de manifiesto que en niños menores de 1 año los niveles de la hormona se incrementan después de la toma del alimento, pasando los valores de 53.3 pg/ml a 69.9 pg/ml. Estos autores encuentran además que el destete no modifica el patrón reseñado; sin embargo, esta respuesta a la comida no aparece hasta los 3 o 4 meses de vida del niño (Moazan y col., 1984), ya que no parece que existan evidencias de una estimulación postprandial de la gastrina sérica, ni en niños de 1 a 7 días de edad (Aydin y col., 1986) ni en niños menores de 2 meses (Moazan y col., 1984).

**VIP, PP, GIP:** En el ternero, la alimentación con leche provoca un inmediato incremento de los niveles plasmáticos de PP (polipéptido pancreático) (Davicco y col., 1979; Bloom y col., 1978; Guilloteau y col., 1986) si bien éstos, disminuyen progresivamente hasta alcanzar de nuevo los valores basales a los 30 minutos (Bloom y col., 1978), mientras que los niveles de VIP no sufren variaciones (Guilloteau y col., 1986). Cuando los animales ingieren un sustituto lácteo, a base de proteína de soja, se observa un descenso en los niveles de PP 1 hora después de la comida y un aumento concomitante en los niveles de VIP (Guilloteau y col., 1986), si bien, estas diferencias, con respecto a los animales alimentados con leche, no son significativas. Por lo que se refiere al GIP (péptido inhibidor gástrico), éste sufre un gran incremento después de la comida aunque, tanto los niveles basales como en respuesta a la comida fueron siempre mucho más bajos en los animales alimentados con el sustituto lácteo. Estas diferencias podrían deberse a un patrón distinto de vaciamiento de la grasa así como a variaciones en la absorción de glucosa para ambos tipos de alimento, ya que una menor



cantidad de glucosa absorbida redundaría, de acuerdo con Ebert y Creutzfeldt (1980), en una menor secreción de GIP.

Somatostatina, Motilina, insulina: En el ternero, la ingestión de leche no produce cambios en las concentraciones plasmáticas de somatostatina y motilina, dentro de la primera hora postprandial (Guilloteau y col., 1986), mientras que los niveles de insulina se incrementan considerablemente, permaneciendo elevados hasta la quinta hora después de la toma del alimento (Grizard y col., 1982). Por su parte, Ruckebush y col. (1983), encuentran que los menores niveles séricos de somatostatina aparecen entre la cuarta y séptima hora después de la comida.

Cuando los animales ingieren un sustituto lácteo a base de soja (Guilloteau y col., 1986) ó bien a base de proteína de pescado (Grizard y col., 1982), no se observaron diferencias, respecto a los animales alimentados con leche, en los niveles pre y postprandiales de las tres hormonas reseñadas.

#### 2.3.3.2.- Respuesta a la administración de péptidos gastro-intestinales

Estudios realizados por Davicco y col. (1980) en terneros alimentados con leche, pusieron de manifiesto que la infusión durante la quinta hora postprandial de secretina y CCK exógena, produce un incremento de la secreción de fluido, proteínas totales y amilasa en el jugo pancreático, si bien la secretina parece tener mayor influencia que la CCK. Por su parte, la somatostatina y el glucagón inhiben estos efectos, mientras que la gastrina provoca un aumento del flujo, y no modifica la concentración de proteínas y amilasa; el VIP no tiene ningún efecto. Los resultados obtenidos por estos autores, no difieren de la respuesta observada en oveja adulta (Zalucki y col., 1979; Studzinski



y Bobowiec, 1980; Pierzinowski y Barej, 1984; Harada y col., 1986) ni en otras especies de monogástricos adultos (Singh y Webster, 1978; Jensen y col., 1978; Florholmen y col., 1984). En un trabajo previo, Davicco y col. (1979) observaron en terneros alimentados con un sustituto lácteo, que la infusión endovenosa de PP (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso/hora, durante 15 minutos) provoca un descenso significativo del flujo de jugo pancreático así como de la producción de proteínas totales y amilasa. Si la infusión se realiza después de haber infundido secretina, el PP inhibe drásticamente la respuesta secretora propia de la misma. Estos resultados indican que el ternero se comporta, por lo que a esta hormona se refiere, como cualquier monogástrico adulto, como por ejemplo el perro (Lin y col., 1977; Taylor y col., 1979) y el hombre (Bloom y col., 1978).

Por otra parte, en estudios realizados en homogenado de páncreas de ratas de 1 a 8 días de edad, se ha demostrado la existencia de una respuesta secretora a la CCK, la cual causa un aumento de la cantidad de amilasa total presente en el tejido desde 16.2 a 24.4 UAA. Por su parte, la secretina no provocó ningún efecto sobre dicha enzima (Werlin y Grand, 1979).

Por último, los niños recién nacidos y lactantes de 1 mes, presentan idéntica respuesta pancreática a la secretina y CCK, provocando ambas hormonas un incremento en flujo, electrolitos y enzimas del jugo pancreático. Esto sugiere, que el páncreas del neonato no distingue entre las dos hormonas, probablemente debido a una falta de madurez de los receptores de membrana para la secretina y CCK.

#### 2.3.4.- Control de la secreción pancreática: influencias nerviosas

Es escasa la información existente sobre el papel que juega el sistema nervioso autónomo en el control de la secreción pancreática exocrina de los prerrumiantes, refiriéndose la mayoría de los trabajos al efecto que produce dicho sistema sobre las distintas hormonas



gastrointestinales, que de alguna manera modulan la secreción de jugo pancreático.

Los estudios llevados a cabo por Bloom y col. en el cordero (1975) y en el ternero (1978) así como los realizados por Hardy y col. (1979) en el cabrito, ponen de manifiesto que el incremento que se produce en la actividad simpática eferente durante la toma del alimento, y que se manifiesta por hipertensión y taquicardia (Bloom y col., 1975), no tiene efecto sobre la liberación de hormonas pancreáticas. Por el contrario, todas las respuestas endocrinas que tienen lugar con la toma del alimento, y que han sido comentadas en el capítulo correspondiente, desaparecen cuando se administra al animal atropina (0.2 mg/kg). Por tanto, estos autores concluyen que todas las hormonas estudiadas están bajo el control de algún tipo de mecanismo parasimpático muscarínico, que es independiente del que controla el paso de leche al abomaso (Newhook y Titchen, 1974). Por otra parte, cuando se bloquea todo el sistema nervioso autónomo, no se observaron cambios postprandiales en los niveles de gastrina, por lo que no existe ningún efecto vagal, colinérgico, que controle la respuesta a la comida de dicha hormona. Por lo que se refiere a los niveles plasmáticos de PP, tanto basales como en respuesta a la comida, éstos estarían determinados por la división parasimpática (Bloom y col., 1974; Bloom y col., 1978a y 1978b) aunque también intervendría un mecanismo entérico (Bloom y col., 1978b; Edwards y Bloom, 1978), al igual que ocurre en el hombre (Schwartz y col., 1976; Adrian y col., 1977; Taylor y col., 1978a) pero no en el perro (Taylor y col., 1978b). En cuanto al VIP, tanto Edwards y col. (1978) como Bloom y col. (1979) encuentran que la estimulación vagal provoca un aumento de la secreción de dicha hormona.

A la vista de estos resultados, Bloom y col. (1978b) concluyen que la respuesta endocrina obtenida por estimulación del sistema nervioso autónomo, y que afectaría a la secreción pancreática exocrina, estaría mediada por la división parasimpática, y que podría ser modificada por la actividad simpática bajo condiciones de stress;



resultados que estarían de acuerdo con los obtenidos por Bell y Watson (1975) en el ternero y por Reynold y Heath (1982) en la oveja adulta.



1) Dirección experimental

El presente trabajo se ha desarrollado en el laboratorio de Física de la Universidad de Sevilla, durante el curso 1964-1965. El autor desea agradecer a los señores profesores D. J. Sánchez y D. J. Sánchez, por haberle permitido trabajar en sus laboratorios, y a los señores profesores D. J. Sánchez y D. J. Sánchez, por haberle proporcionado los materiales necesarios para la realización de este trabajo.

El presente trabajo se ha desarrollado en el laboratorio de Física de la Universidad de Sevilla, durante el curso 1964-1965. El autor desea agradecer a los señores profesores D. J. Sánchez y D. J. Sánchez, por haberle permitido trabajar en sus laboratorios, y a los señores profesores D. J. Sánchez y D. J. Sánchez, por haberle proporcionado los materiales necesarios para la realización de este trabajo.

El presente trabajo se ha desarrollado en el laboratorio de Física de la Universidad de Sevilla, durante el curso 1964-1965. El autor desea agradecer a los señores profesores D. J. Sánchez y D. J. Sánchez, por haberle permitido trabajar en sus laboratorios, y a los señores profesores D. J. Sánchez y D. J. Sánchez, por haberle proporcionado los materiales necesarios para la realización de este trabajo.

El presente trabajo se ha desarrollado en el laboratorio de Física de la Universidad de Sevilla, durante el curso 1964-1965. El autor desea agradecer a los señores profesores D. J. Sánchez y D. J. Sánchez, por haberle permitido trabajar en sus laboratorios, y a los señores profesores D. J. Sánchez y D. J. Sánchez, por haberle proporcionado los materiales necesarios para la realización de este trabajo.

El presente trabajo se ha desarrollado en el laboratorio de Física de la Universidad de Sevilla, durante el curso 1964-1965. El autor desea agradecer a los señores profesores D. J. Sánchez y D. J. Sánchez, por haberle permitido trabajar en sus laboratorios, y a los señores profesores D. J. Sánchez y D. J. Sánchez, por haberle proporcionado los materiales necesarios para la realización de este trabajo.

----- MATERIAL Y -----  
METODOS



### 3.1.- Diseño experimental

Con el fin de estudiar tanto la fisiología del páncreas exocrino como la influencia del tipo de alimento sobre la secreción de jugo pancreático, en cabritos lactantes, se realizaron dos tipos de experimentos: agudos en animales anestesiados, y crónicos en cabritos conscientes.

#### 3.1.1.- Experimentos crónicos

Se han utilizado un total de 20 cabritos, que se distribuyeron en dos grandes bloques experimentales:

Grupo A: Animales alimentados con leche de cabra

Grupo B: Animales alimentados con un sustituto lácteo

Todos los animales fueron alimentados mediante biberón, suministrándole dos tomas diarias; una entre las 09.00 y 10.00 horas y otra entre las 17.00 y 18.00 horas. En todos los casos las ingestas fueron equivalentes a 2.5 veces las necesidades de mantenimiento, de acuerdo con su peso metabólico (Walker y Jagush, 1969). El sustituto lácteo utilizado se preparó al 17% p/p en agua caliente.

En cada uno de los bloques experimentales se realizaron los ensayos correspondientes teniendo en cuenta la edad de los animales; así, los experimentos se llevaron a cabo durante la segunda, tercera y cuarta semana de vida de los mismos. Esto permitió la obtención de datos sobre el desarrollo funcional del páncreas exocrino en esta raza de ganado caprino.



### 3.1.2.- Experimentos agudos

Se utilizaron 5 animales, en los que se realizaron los siguientes ensayos:

- Estudio de la secreción pancreática exocrina en reposo: secreción basal

- Influencia de la inyección de hormonas gastrointestinales, a diferentes dosis

1.- Secretina (Sigma): 0.01; 0.025; 0.1; 0.5 U/Kg peso

2.- CCK (Sigma): 0.05; 0.1; 0.25; 0.5 U/Kg peso

- Influencia de la infusión duodenal de ClH 0.1 Na diferentes pH (3,4 y 5)

- Influencia de la estimulación vagal en el cuello, utilizando diferentes condiciones de estimulación en cuanto a intensidad, frecuencia y duración del estímulo:

### 3.2.- Animales y dietas

#### 3.2.1.- Animales

Para la realización de nuestros experimentos, se han utilizado un total de 25 cabritos lactantes de raza granadina suministrados por la granja experimental de la Exma. Diputación Provincial de Granada y por diferentes explotaciones de ganado cabrío, sin distinción de sexo, peso al nacimiento o tipo de parto.



### 3.2.2.- Dietas utilizadas

La composición analítica de los alimentos empleados, expresada en porcentaje de sustancia seca, fué la siguiente:

	Leche de cabra	Sustituto lácteo (1)
	-----	-----
Materia seca	14.46	93.53
Materia orgánica	91.47	91.96
Nitrógeno	4.26	3.93
Proteína bruta	26.63	24.56
Extracto etéreo	33.51	24.84
Minerales totales	8.53	8.04

(1) Preparado comercial Milkor (Industrias Pablos S.A , León)

El lactorreemplazante empleado tiene, según la casa productora, la siguiente composición cualitativa: leche descremada, grasa animal, suero lácteo, concentrado protéico de soja, fibra celulósica, vitaminas, minerales, aminoácidos y aromas.

### 3.3.- Preparaciones quirúrgicas

#### 3.3.1.- Experimentos crónicos

##### 3.3.1.1- Preoperatorio

Los animales, una vez que habían tomado los calostros, fueron separados de la madre y alojados en jaulas especiales, en una habitación termorregulada a una temperatura de  $24 \pm 2^{\circ}$  C. Durante los días previos a la intervención quirúrgica, se procedió a la



adaptación de los animales a la nueva situación y a la alimentación mediante biberón.

### 3.3.1.2.- Operatorio

La intervención quirúrgica se llevó a cabo, previo ayuno de 24 horas, cuando los animales tenían 5-7 días de edad, para los ensayos que se realizaron, en los cabritos, durante la segunda y tercera semana de vida, ó 12-14 días de edad, para los experimentos efectuados, en los cabritos, durante la tercera y cuarta semana de vida.

Para la anestesia de inducción se utilizó Tiobarbital sódico en dosis de 20 mg/kg de peso corporal, que se administró a través de un catéter en la vena yugular, de forma lenta y progresiva, hasta alcanzar el animal el estado de anestesia profunda. Posteriormente, se procedió a la intubación endotraqueal, mediante visión laringoscópica, utilizando un tubo Rush de neumotaponamiento que se conectó a un sistema abierto de respiración (Aparato Boyle, tipo BOC) el cual suministra al animal una mezcla de oxígeno, protóxido de Nitrogeno y Halotano, éste último empleado como anestésico de mantenimiento.

Una vez fijado el animal en la mesa de operaciones, en posición de cúbito lateral izquierdo, y bajo estrictas condiciones de asepsia, se procedió a la intervención quirúrgica. Trás laparotomía costal-paradorsal derecha, de unos 7-10 cm, se localizó el conducto pancreato-biliar común en el cual se realizaron 3 incisiones; la primera se practicó a unos 4 mm por debajo de la unión del conducto biliar con el conducto cístico; la segunda a unos 3 ó 4 mm caudal a la unión del conducto pancreático con el colédoco, y la tercera cerca de la desembocadura del conducto biliar común a duodeno. Posteriormente, se colocaron 3 catéteres de Silastic (diámetro externo=2 mm; diámetro interno=1 mm; longitud=150 mm) con una punta de polivinilo. El primero se insertó en dirección al



higado, procurando no sobrepasar el conducto cístico ni el hepático; el segundo, también en dirección al higado, pero por debajo de la entrada del conducto pancreático; y el tercer catéter en dirección a duodeno pero preservando el funcionamiento normal del esfinter de Oddi. (Fig. 1)

Los catéteres se exteriorizaron a través de la pared abdominal derecha y se unieron entre sí mediante una conexión en "Y", para permitir el libre paso de bilis y jugo pancreático a duodeno. Posteriormente, se procedió a cerrar por planos, mediante sutura continua, el peritonéo y la capa muscular, y mediante puntos sueltos, la piel.

#### 3.3.1.3.- Postoperatorio

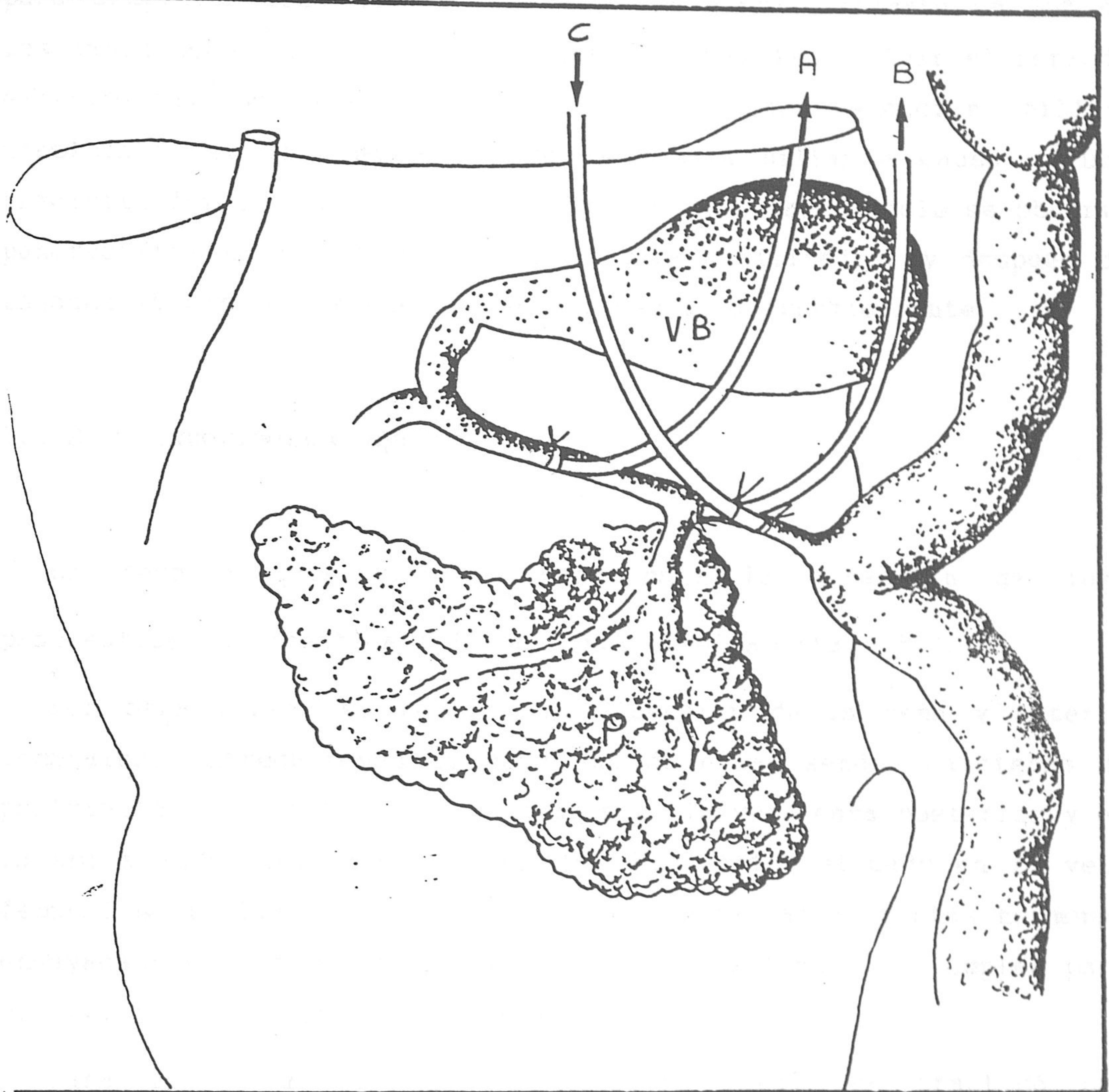
Durante el periodo postoperatorio, de cuatro días de duración, los animales se trataron diariamente con un antibiótico (Ampicilina sódica: 250 mg/día) y un espasmolítico (Buscapina N.R. compositum). Se realizaron también controles periódicos de la temperatura corporal y análisis de orina en la cual se midió, mediante tiras reactivas (Multistix), pH; glucosa; cuerpos cetónicos; sangre y bilirrubina. La alimentación normal se reinició pasadas 24 horas de la intervención quirúrgica.

#### 3.3.1.4.- Controles postmortem

Una vez realizados los experimentos programados, los animales fueron sacrificados y se procedió a un examen macroscópico de la cavidad abdominal. En la mayoría de los casos, no se observó daño alguno y se pudo comprobar la buena fistulización de las cánulas. Se realizaron también cortes histológicos de páncreas donde se observaron formaciones bilaterales revestidas por células aplanadas y ocasionalmente cuboideas, existiendo elementos descamados



Fig. 1.- Esquema de la localización de las cánulas en el conducto biliar común



- P: Páncreas
- VB: Vesícula biliar
- A: Cateter que recoge el flujo biliar
- B: Cateter que recoge el jugo pancreático
- C: Cateter de reingreso a duodeno



intraluminales así como un denso infiltrado periférico de elementos mononucleares. No obstante, y de acuerdo con con el examen anatomopatológico, no existen anomalías importantes que pudieran afectar el normal funcionamiento del páncreas. (Fig. 2 y Fig. 3)

La supervivencia de los animales fué, en general, la necesaria para completar los ensayos, si bién, en aproximadamente un 20% de los casos hubo que sacrificar al animal antes de concluir el periodo experimental ya que aparecieron signos de retención biliar, ocasionada por la obstrucción de la cánula biliar a causa de una precipitación de pigmentos biliares. Por otra parte, solo se observó pancreatitis en uno solo de los animales utilizados, y después de pasados 15 días desde que fuera intervenido quirúrgicamente.

### 3.3.2.- Experimentos agudos

La técnica quirúrgica empleada para la obtención de jugo pancreático fué idéntica a la descrita en el apartado 3.3.1.2.

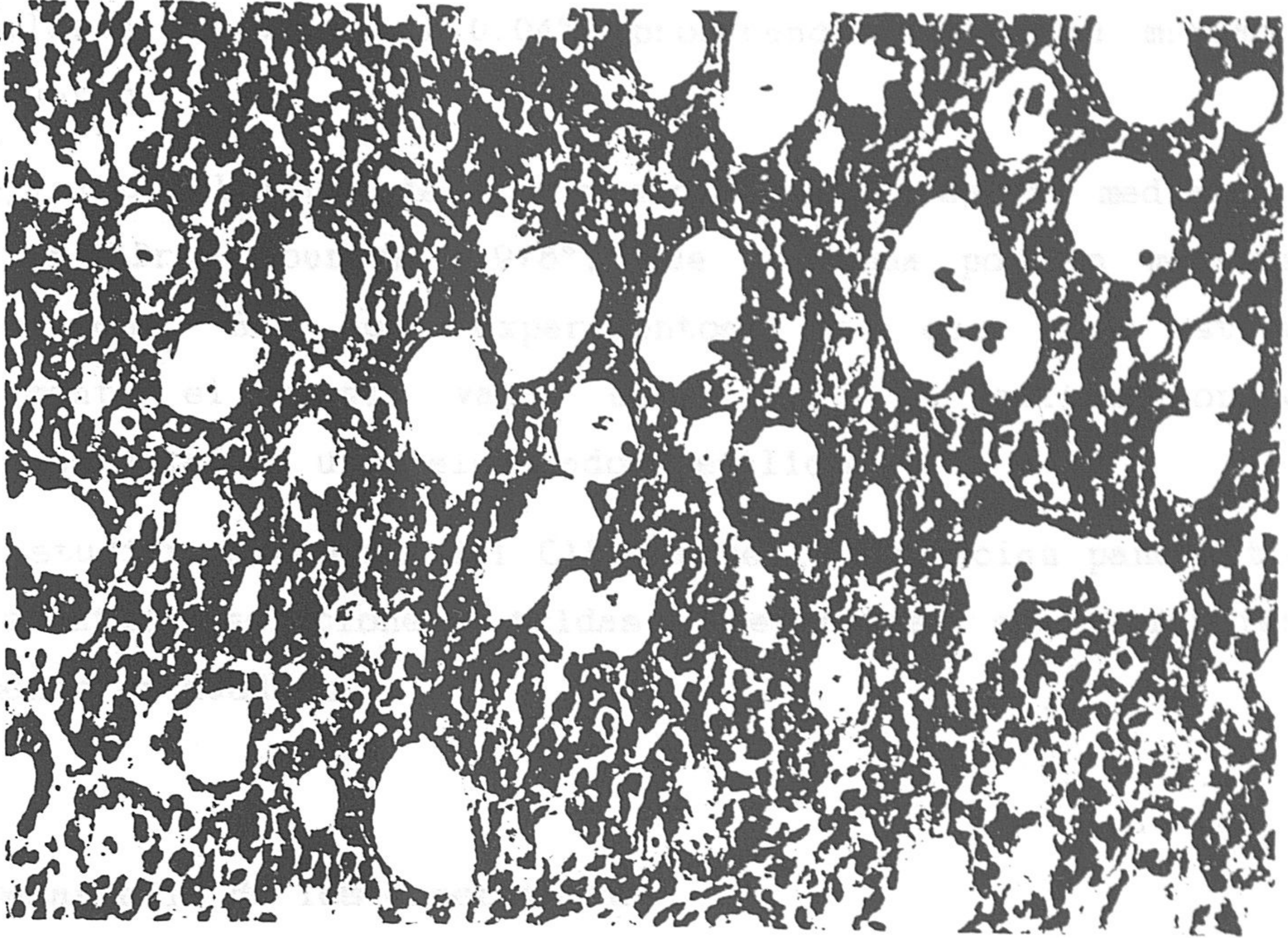
Por otra parte, se realizó la disección de la vena y arteria femorales, introduciendo en cada una de ellas sendos catéteres de polivinilo cuyos extremos se situaron en la vena cava posterior y en la aorta abdominal, respectivamente. El catéter situado en la vena femoral se utilizó para la administración de las distintas hormonas ensayadas; el catéter colocado en la arteria femoral se empleó para el registro de la presión arterial.

Para llevar a cabo la estimulación vagal, se practicó una incisión en la parte superior del cuello, abriendo por planos, hasta localizar ambas ramas del nervio vago que se disecaron y aislaron con un hilo de seda de 4/0.

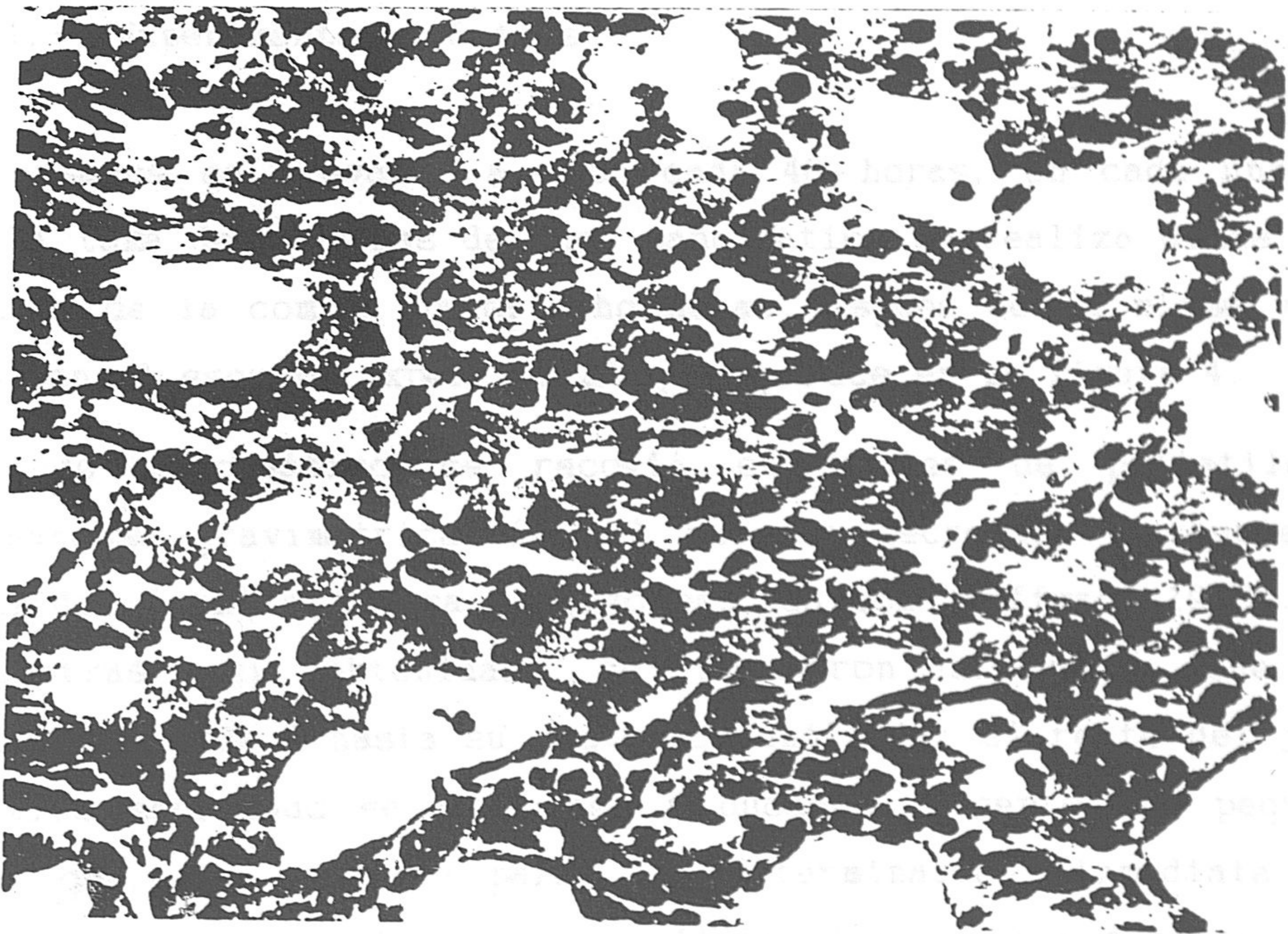
Para el registro y estimulación se utilizó un polígrafo (Phisiograph E & M) de seis canales. A uno de ellos se conectó, a



Fig. 2 y 3.- Cortes histológicos de páncreas de cabrito.



X 25



X 40



través de un preamplificador, un transductor de presión arterial (Statham p 23Db) que a su vez estaba conectado a la cánula de la arteria femoral; todo el circuito se llenó de una solución anticoagulante (Heparina al 0.04%) procurando reducir al mínimo el espacio muerto.

El registro del flujo de jugo pancreático se realizó mediante un transductor "Drop Counter A-978", que funciona por un mecanismo piezoeléctrico. En los experimentos en que se estimuló eléctricamente el nervio vago, se utilizó el estimulador del polígrafo conectado a unos electrodos metálicos.

Para estudiar el efecto del ClH, sobre la secreción pancreática, las distintas soluciones ácidas preparadas se infundieron directamente en duodeno.

### 3.4.- Desarrollo de los experimentos

#### 3.4.1.- Experimentos crónicos

Los ensayos se llevaron a cabo cada 48 horas; en cada uno de ellos, la toma de muestras de jugo pancreático se realizó desde una hora antes de la comida hasta ocho horas después de la misma y de acuerdo con el esquema experimental que aparece en la figura 4.

El jugo pancreático se recogió en viales de polietileno, determinandose gravimetricamente el volumen secretado y asumiendo una densidad igual a 1 para el jugo pancreático (Hoffman, 1963). De las muestras así obtenidas, se separaron alicuotas que se almacenaron a -20° C hasta su posterior análisis; el resto del jugo pancreático secretado se reingresó a duodeno, excepto una pequeña porción que se utilizó para la determinación inmediata de bicarbonato. Por su parte, la bilis fluía libremente a duodeno para evitar la interrupción enterohepática de sales biliares.







### 3.4.2.- Experimentos agúdos

Después de su paso por el transductor piezoeléctrico, el jugo pancreático se recogió en recipientes de plástico del que se tomaron alicuotas para su posterior análisis reingresándose el resto a duodeno. Al extremo de la cánula pancreática se aplicó silicona para uniformar el tamaño de las gotas; el cálculo del flujo se realizó mediante una pesada previa de las mismas.

El desarrollo de los experimentos se llevó a cabo de acuerdo con el esquema que se muestra en la figura 5.

### 3.5.- Técnicas analíticas

#### 3.5.1.- Para el jugo pancreático

##### 3.5.1.1.- Determinación de Bicarbonato

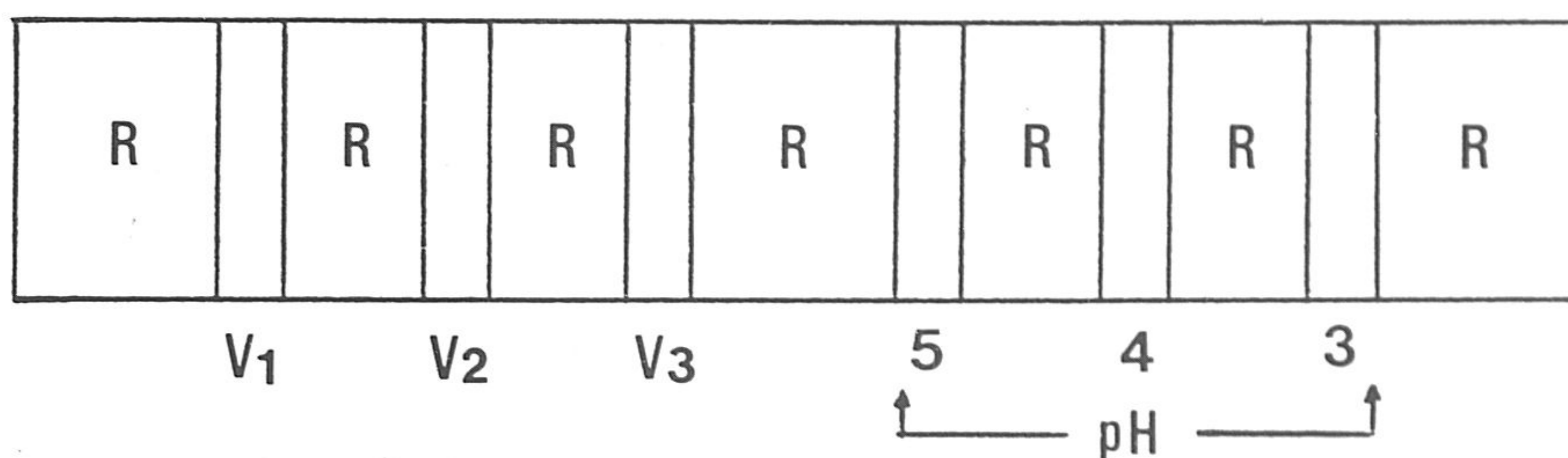
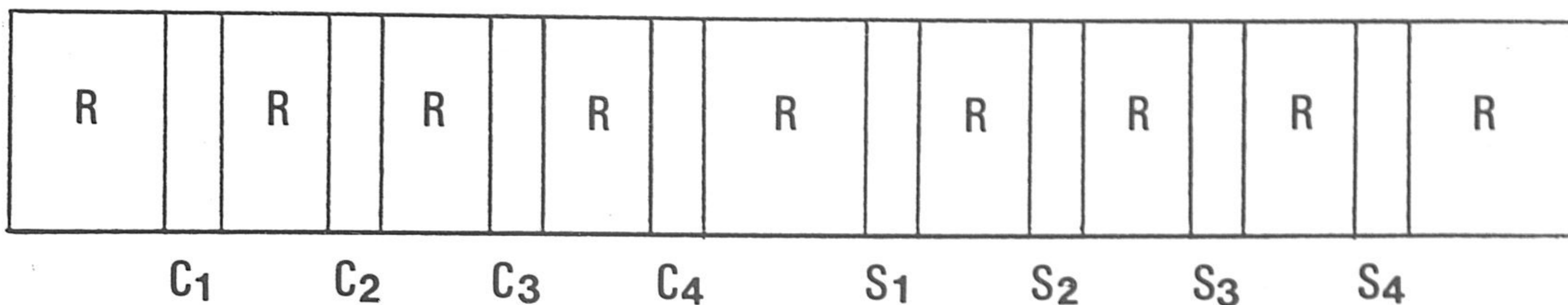
La concentración de Bicarbonato se determinó añadiendo a 0.5 ml de jugo pancreático, 4 ml de ClH 0.01 N para posteriormente, valorar la mezcla con NaOH 0.01 N hasta alcanzar un pH final de 7, utilizando un sistema de titriación a punto final (ETS 822: Radiometer A/S, Copenhaguen, Dinamarca) . Los resultados se expresan en mEq de bicarbonato por litro de jugo pancreático. (Debas y Yamagishi, 1978)

##### 3.5.1.2.- Determinación de Cloruros

La valoración de la concentración de este anión se realizó por volumetría potenciométrica con nitrato de plata 0.01 N. La técnica consiste en añadir a 50  $\mu$ l de jugo pancreático, 4 ml de ácido



Fig. 5.- Esquema del desarrollo de los experimentos en el animal anestesiado



R: Reposo

C: CCK (1 - 0.05  
 (2 - 0.1  
 (3 - 0.25  
 (4 - 0.5

S: secretina (1 - 0.01  
 (2 - 0.025  
 (3 - 0.1  
 (4 - 0.5

V: est. Vagal (1 - 10  
 (2 - 15 Hz } 10V; 0.5 ms  
 (3 - 20



sulfúrico 0.5 N y valorando la mezcla de reacción final con nitrato de plata hasta alcanzar una diferencia de potencial de 146 mv. Los resultados se expresan en mEq de cloruro por litro de muestra.

#### 3.5.1.3.- Proteínas totales

La técnica utilizada fué la de Lowry y col. (1951) que se basa en la determinación colorimétrica del complejo obtenido después de la reducción por las proteínas, en presencia de iones cobre, del reactivo de Folin-Ciocalten. Previamente, se realizó una dilución 1:40 del jugo pancreático en agua destilada. La concentración de proteínas totales viene dada en mg/ml de jugo pancreático.

#### 3.5.1.4.- Actividad amilásica

Se basa en la hidrólisis de un sustrato de almidón soluble por dicha enzima y la posterior valoración colorimétrica de la maltosa liberada, de acuerdo con la técnica descrita por Norlting y Bernfield (1958), modificada por Hickson (1970), expresandose los resultados en Unidades de actividad amilásica (U.A.A.).

#### 3.5.1.5.- Actividad Quimiotripsica

En primer lugar se procede a la activación del quimiotripsinogeno, para lo cual se diluyen 0.1 ml de jugo pancreático en 0.9 ml de tampón fosfato 0.2 M, pH=7.6 que contiene 0.1 mg/ml de tripsina, incubandose dicha mezcla durante 1 hora y a 00 C.

En la cubeta de reacción de un titriador se colocan 1 ml de la mezcla anterior, 15 ml de tampón 0.005 M en Tris; 0.04 M en ClNa (pH=7.9) y 0.5 ml de Acetil-tirosina etil-ester (ATEE) a una



concentración de 251 mg / 10 ml (5 ml de H<sub>2</sub>O + 5 ml de metanol). A continuación se realizó una titrimetría a pH constante (7.9) de los H<sup>+</sup> liberados con NaOH 0.1 N. La actividad quimiotripsica (UAQ) se expresa en  $\mu$ moles de ATEE hidrolizados por minuto y a 27° C (Reboud y col., 1962).

#### 3.5.1.6.- Actividad Lipásica

Hemos utilizado la técnica de Négrel y col. (1976) que se basa en la hidrólisis de la tributirina, que actúa como sustrato de la Lipasa pancreática, siendo los H<sup>+</sup> liberados valorados por titrimetría a pH constante 8.5 con NaOH 0.01 N. El volumen final de reacción contiene 100  $\mu$ l de jugo pancreático, 200  $\mu$ l de tributirina y 15 ml de tampón 0.001 M en Tris, 0.15 M en ClNa, 0.5  $\mu$ M en albúmina sérica (pH=8.5). Una unidad de actividad lipásica (UAL) se define como la cantidad de lipasa capaz de liberar 1  $\mu$ Eq de ácido por minuto y a 27° C.

Para las distintas enzimas pancreáticas se calcularon además, la actividad específica (U/mg), que se define como la actividad presente en 1 mg de proteína total (U x [Pt]), así como la producción de enzimas (U/min.), que se obtiene por multiplicación de las unidades de actividad y el flujo de jugo pancreático.

#### 3.5.2.- Para las dietas

##### 3.5.2.1.- Preparación de las muestras

- Leche de cabra: Se recogieron muestras aleatorias de la leche empleada, a la que se añadió una pequeña cantidad de dicromato



potásico , que actua como conservante, guardándose en cámara fría hasta su posterior análisis.

- Lactorreemplazante: Se recogieron alicuotas del polvo utilizado para la preparación de la solución de leche artificial, que se guardaron en bolsas de plástico y en congelador a  $-20^{\circ}$  C hasta su posterior análisis. El contenido en grasa se determinó en la solución preparada al 17% p/p en agua.

#### 3.5.2.2.- Determinación de materia seca

La materia seca de la leche de cabra se determinó mediante la liofilización de alicuotas de las muestras preparadas, calculandose la humedad de las mismas por diferencia de peso antes y después de liofilizar.

La materia seca del sustituto lácteo se calculó según el contenido de humedad, considerandose ésta como la pérdida de peso que experimenta la muestra tras someterla durante un periodo de 24 horas a  $103 \pm 1^{\circ}$  C.

Para todos los casos la materia seca se calculó como la diferencia entre la muestra fresca utilizada y la humedad determinada en la misma, y expresada como valor porcentual.

#### 3.5.2.3.- Determinación de Nitrógeno

Se determinó por el método de Kjeldahl, convirtiendose los valores de contenido en nitrógeno en los correspondientes de proteína bruta aplicando el factor multiplicador 6.25.



#### 3.5.2.4.- Determinación de grasa

El contenido graso de la leche de cabra y de la solución de lactorreemplazante, se determinó por el método de Gerber; para ello se añadió a 11 ml de muestra, 10 ml de ácido sulfúrico de densidad 1.815 g/ml en un butirómetro, disolviéndose en ella la caseína. Se adicionó igualmente 1 ml de alcohol amílico que favorece la separación de la grasa. La cantidad de ésta se determinó, después de centrifugar a 1100 r.p.m. durante 5 minutos, sobre la escala del butirómetro.

#### 3.5.2.5.- Minerales totales

Se obtuvieron por calcinación en horno, de 1 ó 2 gramos de la muestra a 500° C, durante varias horas. Si la calcinación es incompleta, se humedece el residuo con una solución de nitrato amónico o agua oxigenada y, tras su desecación, se calcina nuevamente la muestra a la temperatura antes citada.

#### 3.5.2.6.- Materia orgánica

Se obtuvo por diferencia entre 100 y el contenido en minerales totales de la muestra (en sustancia seca).

### 3.6.- Tratamiento estadístico

Para la comparación de las medias dentro de un mismo bloque experimental y entre bloques se utilizó el test no paramétrico de la " U de Man-Whitney ".

Para estudiar el posible efecto de la edad de los animales sobre la secreción pancreática exocrina, se realizó el análisis de la



varianza simple; las diferencias significativas entre grupos se obtuvieron mediante el test de Duncan.

Las posibles diferencias, que pudieran aparecer con el tipo de alimento, en el desarrollo ontogenético del páncreas exocrino se evaluaron mediante el análisis factorial (2x2x3).

En todos los casos las diferencias se consideraron significativas a un nivel de confianza superior al 95% .

Todo el tratamiento de datos se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS y en un ordenador personal IBM serie 30 PS2.



100  
90  
80  
70  
60  
50  
40  
30  
20  
10  
0

100

100  
90  
80  
70  
60  
50  
40  
30  
20  
10  
0

-----RESULTADOS-----



Fig. 6.- Valores medios de flujo basal tras la intervención quirúrgica

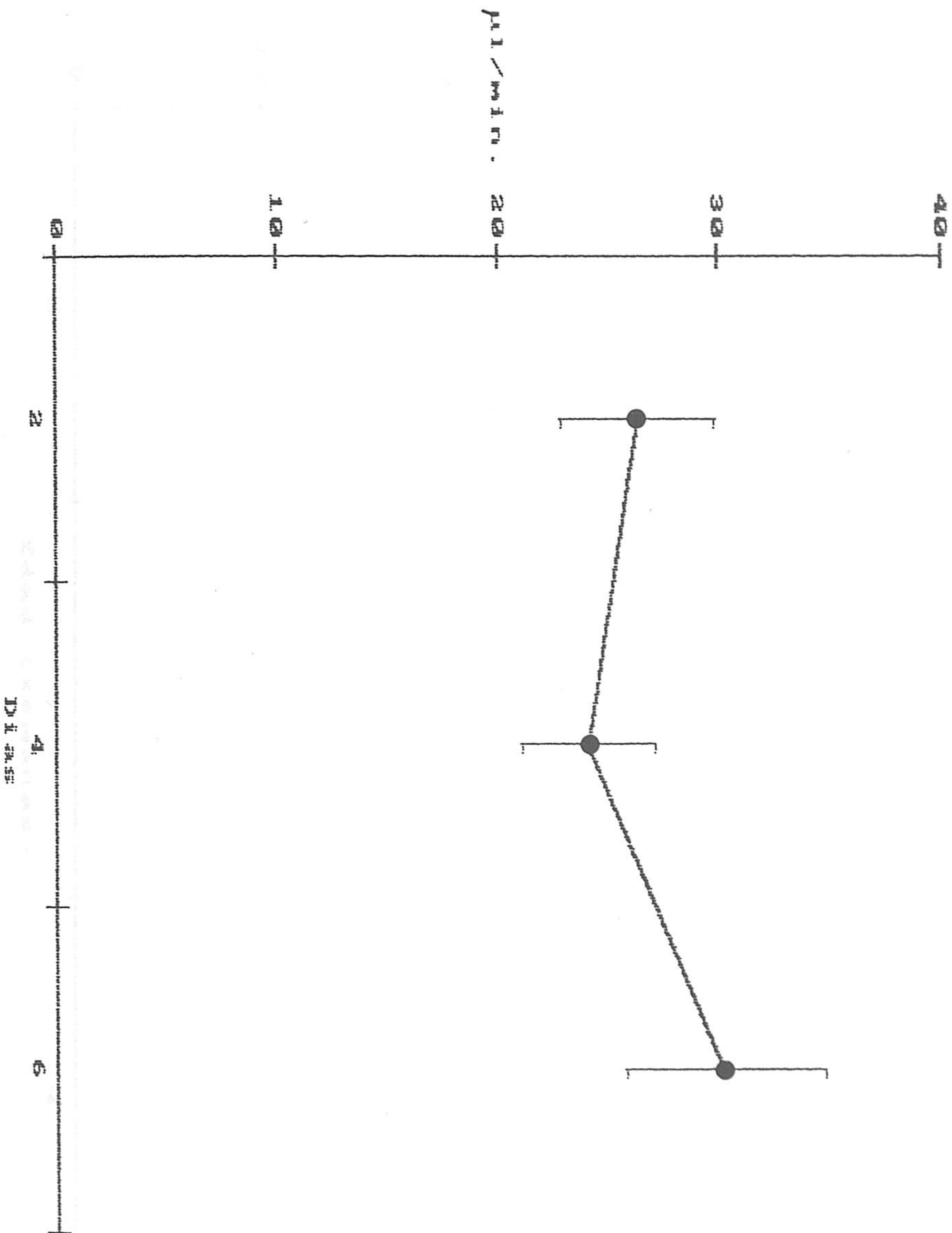




Fig. 7.- Recta de regresión: flujo basal - edad de los animales

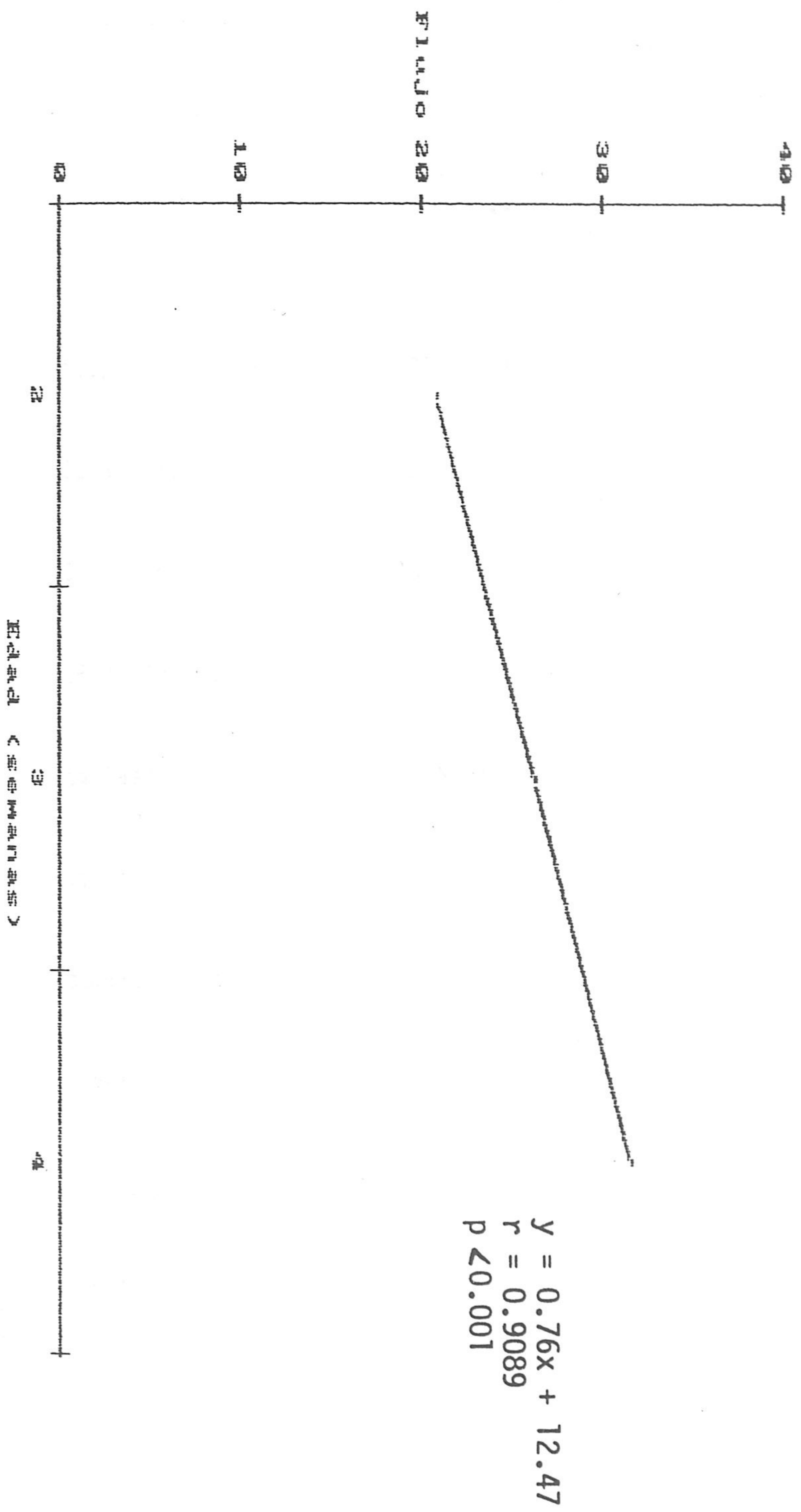




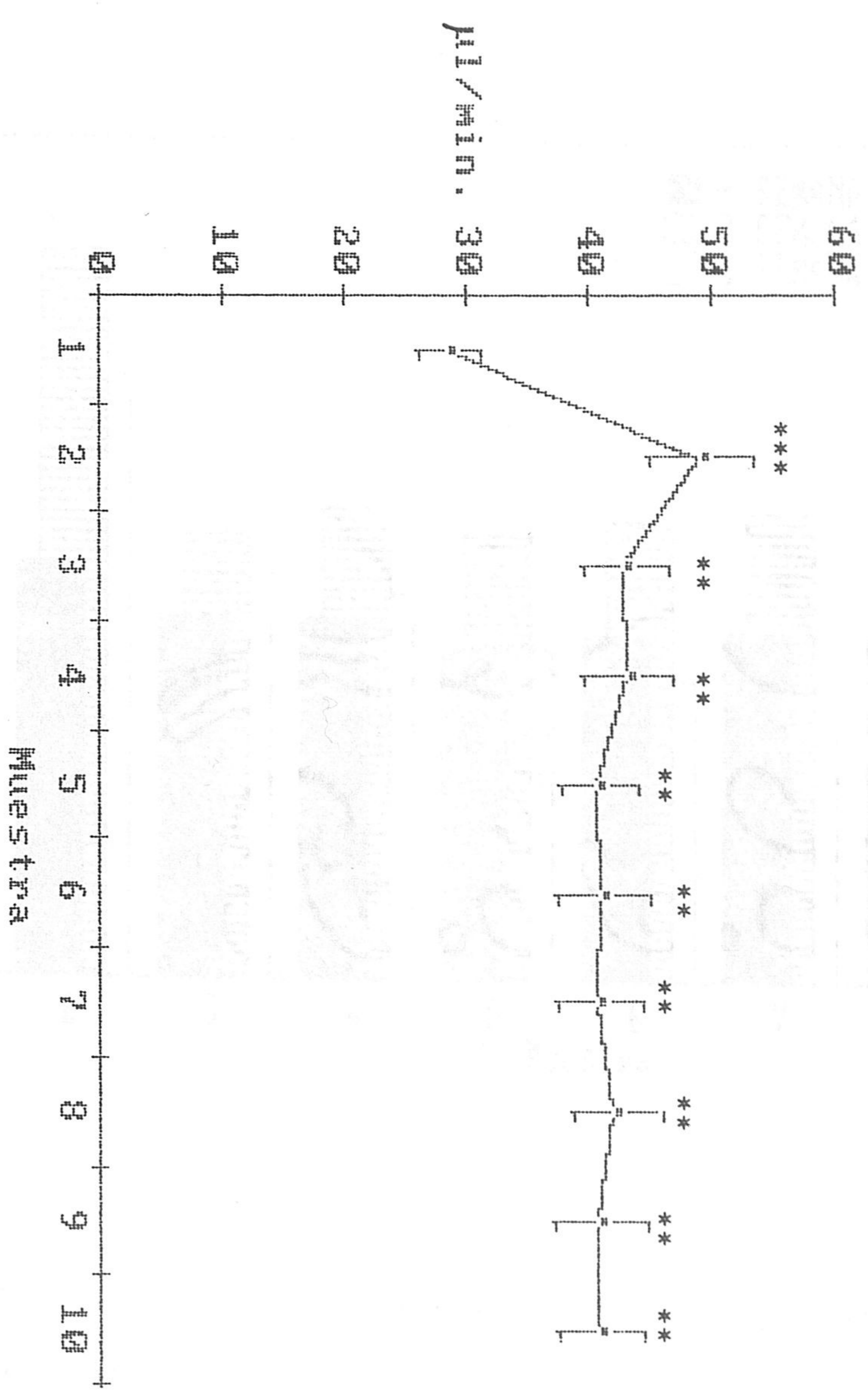
Tabla I.- Secreción pancreática de reposo a las 3 edades ensayadas.

	Semana de vida		
	Segunda	Tercera	Cuarta
flujo ( $\mu$ l/min.)	22,2 $\pm$ 4,10	27,5 $\pm$ 3,25	31,6 $\pm$ 2,66
CO <sub>3</sub> H <sup>-</sup> (mEq/l)	25,2 $\pm$ 0,34	24,8 $\pm$ 0,33	25,4 $\pm$ 0,40
Cl <sup>-</sup> (mEq/l)	161,0 $\pm$ 2,40	165,0 $\pm$ 1,70	164,0 $\pm$ 1,80
[Pt] (mg/ml)	15,0 $\pm$ 1,89	12,0 $\pm$ 1,41	17,0 $\pm$ 0,94
amilasa (UAA)	0,07 $\pm$ 0,007	0,05 $\pm$ 0,005	0,10 $\pm$ 0,007
lipasa (U)	0,19 $\pm$ 0,029	0,19 $\pm$ 0,015	0,26 $\pm$ 0,018
quimiotripsina (U)	7,6 $\pm$ 0,97	9,7 $\pm$ 0,80	8,0 $\pm$ 1,22
numero de experimentos	7	7	6

Se representan valores medios  $\pm$  E.E.M.



Fig. 8.- Valores medios del flujo de jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con leche.

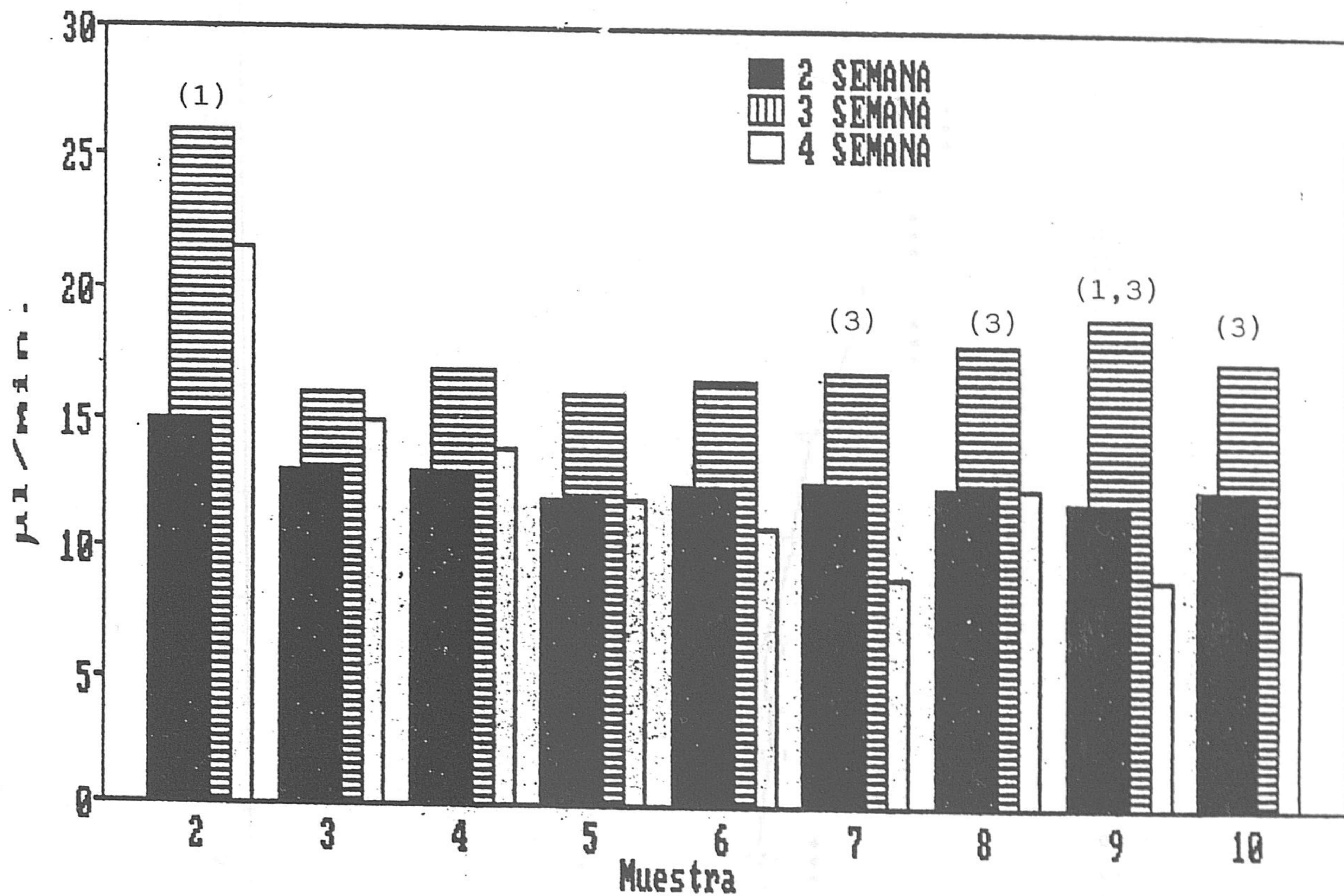


\*\*\*  $p < 0.001$

\*\*  $p < 0.01$



Fig. 9.- Variaciones con la edad en los incrementos postprandiales del flujo de jugo pancreático:

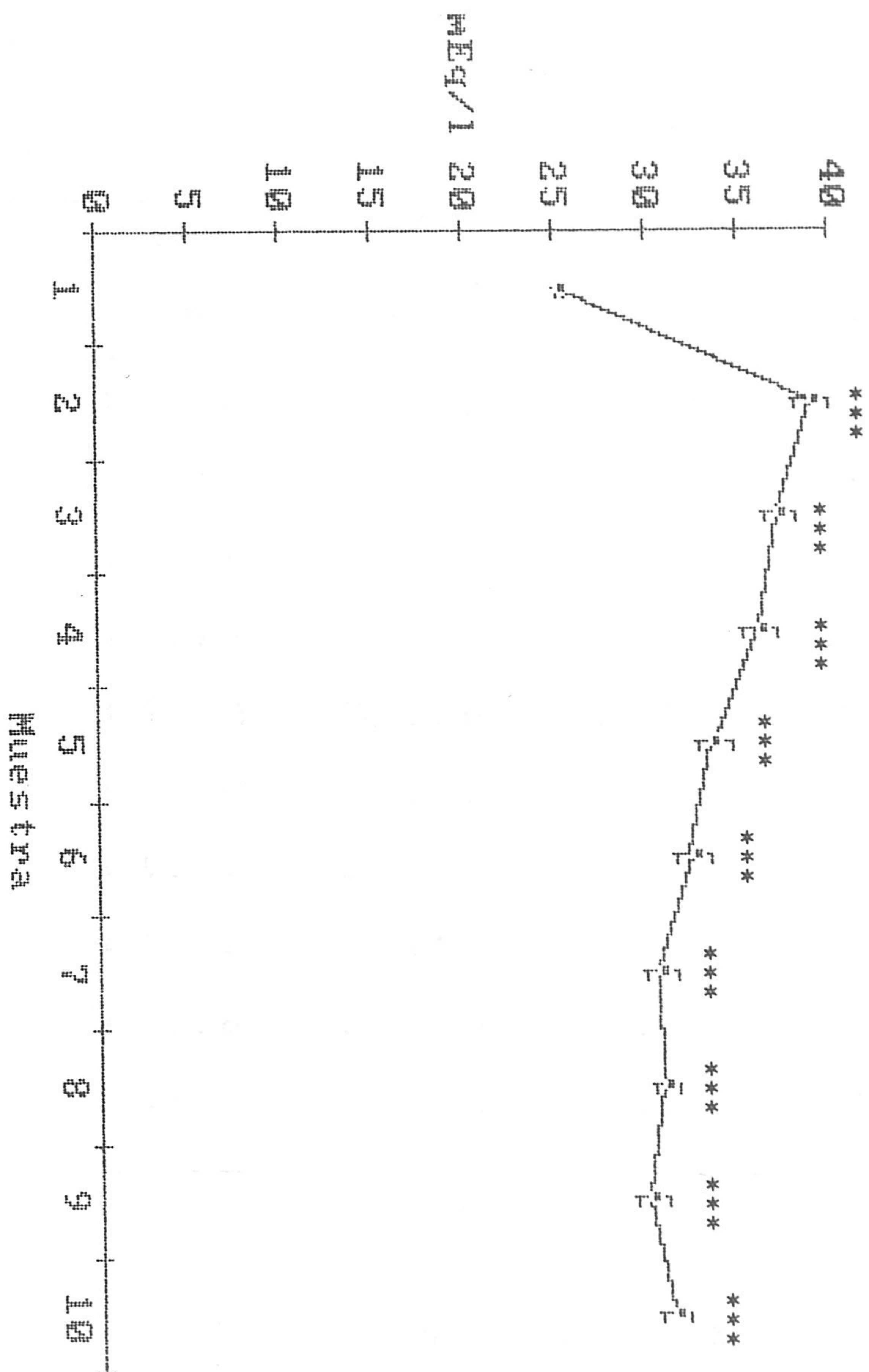


(1): Diferencia significativas entre la segunda y terecera semana

(3): Diferencias significativas entre tercera y cuarta semana



Fig. 10.- Valores medios de bicarbonato en respuesta a la alimentación con leche



\*\*\*  $p < 0.001$



Tabla IIa.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Bicarbonatos		Cloruros	
		mEq/l	µEq/min.	mEq/l	µEq/min.
1	28,3 ± 2,46	25,1 ± 0,21	0,72 ± 0,07	163 ± 1,2	4,6 ± 0,45
2	48,9 ± 4,15	38,8 ± 0,89	1,94 ± 0,19	149 ± 1,1	6,5 ± 0,53
3	42,7 ± 3,47	37,0 ± 0,80	1,59 ± 0,15	151 ± 1,0	6,4 ± 0,52
4	42,9 ± 3,60	35,9 ± 0,96	1,59 ± 0,16	151 ± 0,8	6,6 ± 0,57
5	40,5 ± 3,23	33,3 ± 0,86	1,39 ± 0,14	153 ± 1,1	6,3 ± 0,52
6	40,9 ± 3,67	32,1 ± 0,89	1,38 ± 0,16	155 ± 1,0	6,4 ± 0,59
7	40,5 ± 3,37	30,3 ± 0,83	1,25 ± 0,13	157 ± 1,2	6,4 ± 0,55
8	41,9 ± 3,47	30,5 ± 0,63	1,30 ± 0,13	157 ± 1,1	6,7 ± 0,57
9	40,6 ± 3,66	29,7 ± 0,82	1,21 ± 0,13	157 ± 1,4	6,4 ± 0,57
10	40,5 ± 3,37	30,8 ± 0,66	1,25 ± 0,12	157 ± 1,1	6,4 ± 0,53

Se representan valores medios (n=20) ± E.E.M.



Tabla IIIa.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 2 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Bicarbonatos		Cloruros	
		mEq/l	µEq/min.	mEq/l	µEq/min.
1	22,2 ± 4,10	25,2 ± 0,34	0,56 ± 0,12	161 ± 2,4	3,6 ± 0,79
2	37,4 ± 5,61	38,9 ± 1,45	1,52 ± 0,41	146 ± 2,3	5,4 ± 1,28
3	35,4 ± 5,12	38,9 ± 1,54	1,44 ± 0,38	147 ± 2,0	5,2 ± 1,23
4	35,6 ± 6,22	37,9 ± 1,72	1,42 ± 0,37	149 ± 1,4	5,3 ± 1,24
5	33,5 ± 5,55	33,3 ± 0,95	1,15 ± 0,29	152 ± 2,2	5,1 ± 1,12
6	34,2 ± 6,15	31,8 ± 0,81	1,11 ± 0,29	155 ± 1,8	5,3 ± 1,28
7	34,7 ± 5,45	30,7 ± 0,80	1,08 ± 0,25	157 ± 1,6	5,4 ± 1,18
8	34,4 ± 5,07	32,1 ± 0,97	1,14 ± 0,31	153 ± 1,8	5,3 ± 1,25
9	33,3 ± 5,43	29,9 ± 1,23	1,00 ± 0,21	155 ± 3,0	5,1 ± 1,20
10	34,3 ± 5,74	31,9 ± 0,71	1,10 ± 0,22	156 ± 2,4	5,4 ± 1,05

Se representan valores medios (n=7) ± E. E. M.



Tabla Va.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 4 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Bicarbonatos		Cloruros	
		mEq/l	µEq/min.	mEq/l	µEq/min.
1	31,6 ± 2,66	25,4 ± 0,40	0,80 ± 0,06	164 ± 1,8	4,9 ± 0,60
2	52,8 ± 5,27	36,3 ± 1,49	1,94 ± 0,24	152 ± 1,5	8,0 ± 0,78
3	46,4 ± 3,77	35,0 ± 1,13	1,64 ± 0,17	152 ± 0,7	7,1 ± 0,60
4	45,8 ± 4,20	33,7 ± 1,09	1,56 ± 0,17	152 ± 0,8	7,0 ± 0,67
5	42,1 ± 3,51	33,1 ± 1,06	1,41 ± 0,15	153 ± 1,0	6,5 ± 0,60
6	41,9 ± 4,16	32,1 ± 1,16	1,41 ± 0,16	155 ± 1,0	6,5 ± 0,65
7	39,5 ± 2,35	29,3 ± 1,39	1,15 ± 0,07	159 ± 2,1	6,3 ± 0,46
8	42,7 ± 3,24	29,1 ± 0,74	1,25 ± 0,09	159 ± 1,5	6,9 ± 0,56
9	39,0 ± 1,96	29,1 ± 0,74	1,11 ± 0,05	158 ± 2,0	6,2 ± 0,40
10	38,4 ± 2,40	29,8 ± 0,67	1,16 ± 0,08	157 ± 1,2	6,2 ± 0,35

Se representan valores medios (n=6) ± E. E. M.



Fig. 11.- Efecto de la infusión duodenal de ClH sobre el flujo de jugo pancreático.

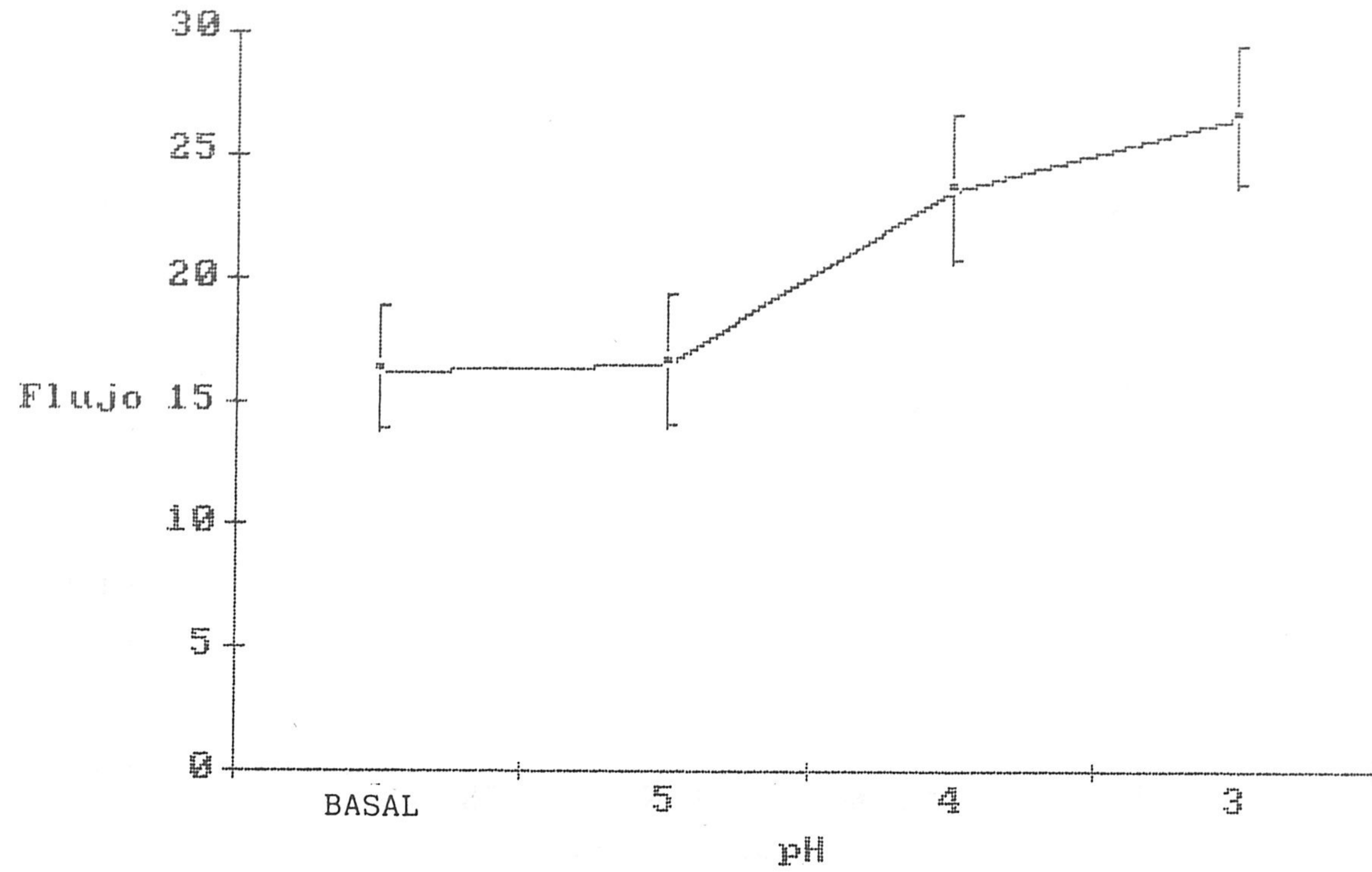




Fig. 12.- Efecto de la administración endovenosa de CCK sobre el flujo de jugo pancreático.

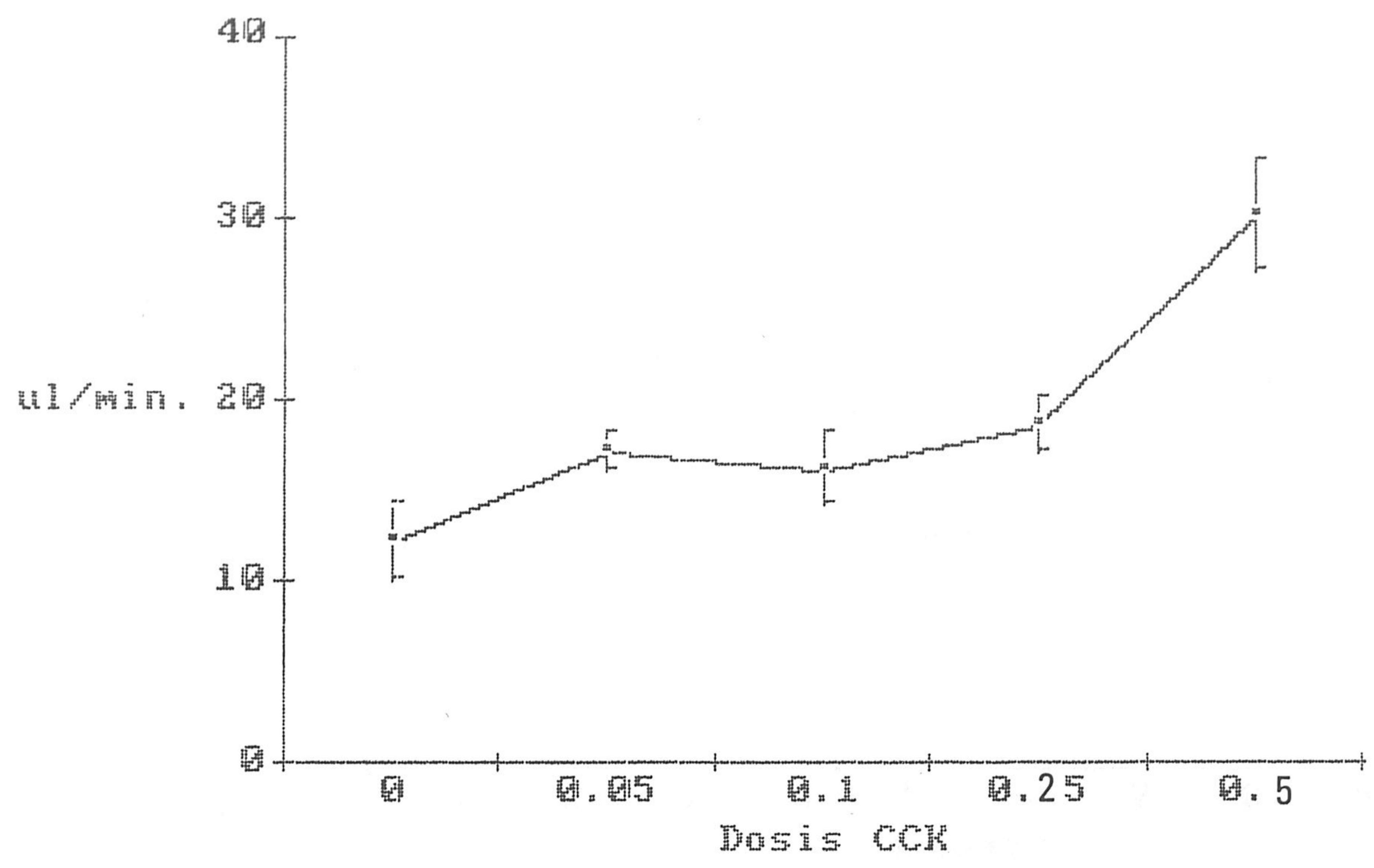




Fig. 13.- Valores medios de la concentración de proteína total en el jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con leche

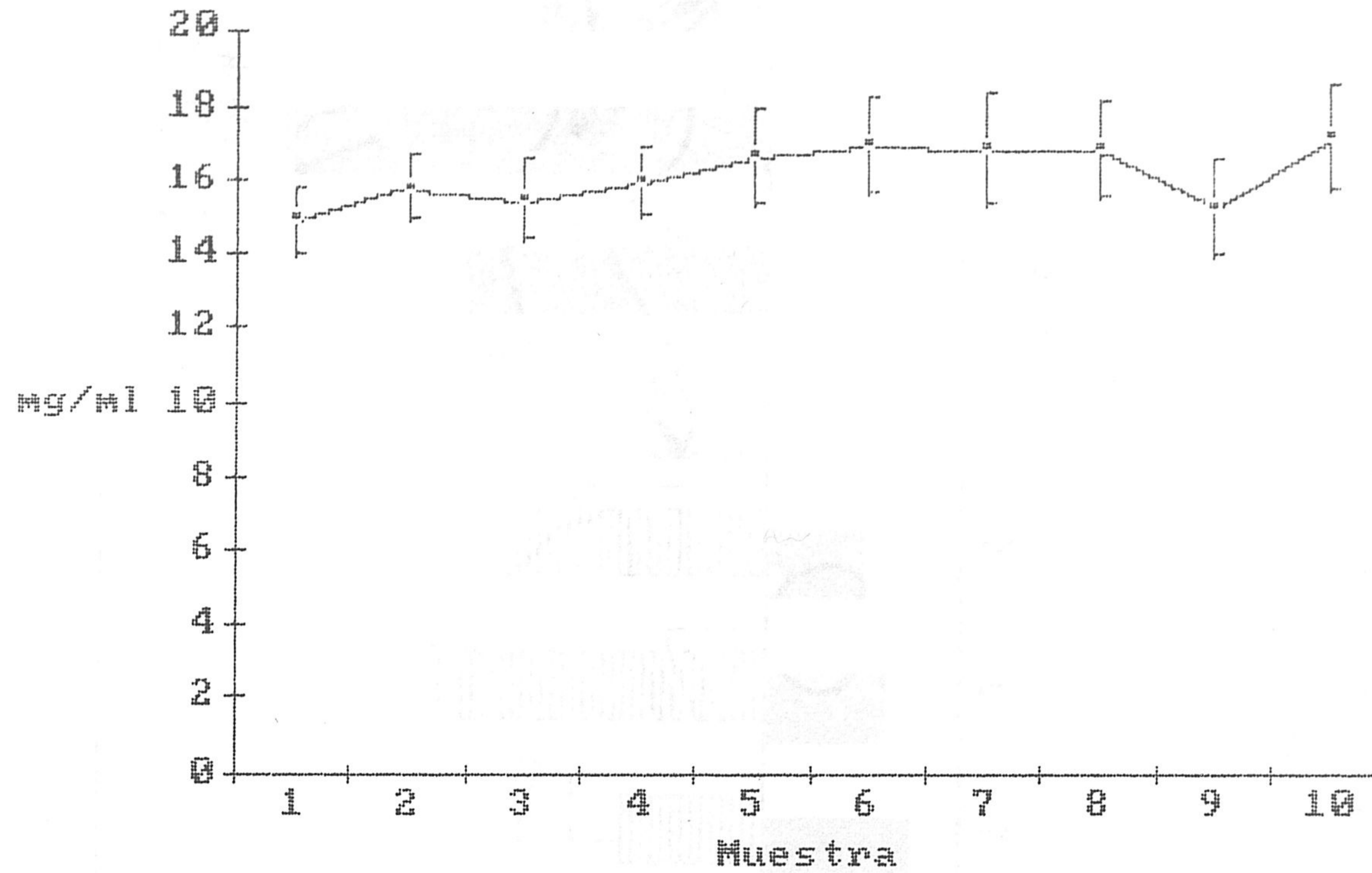
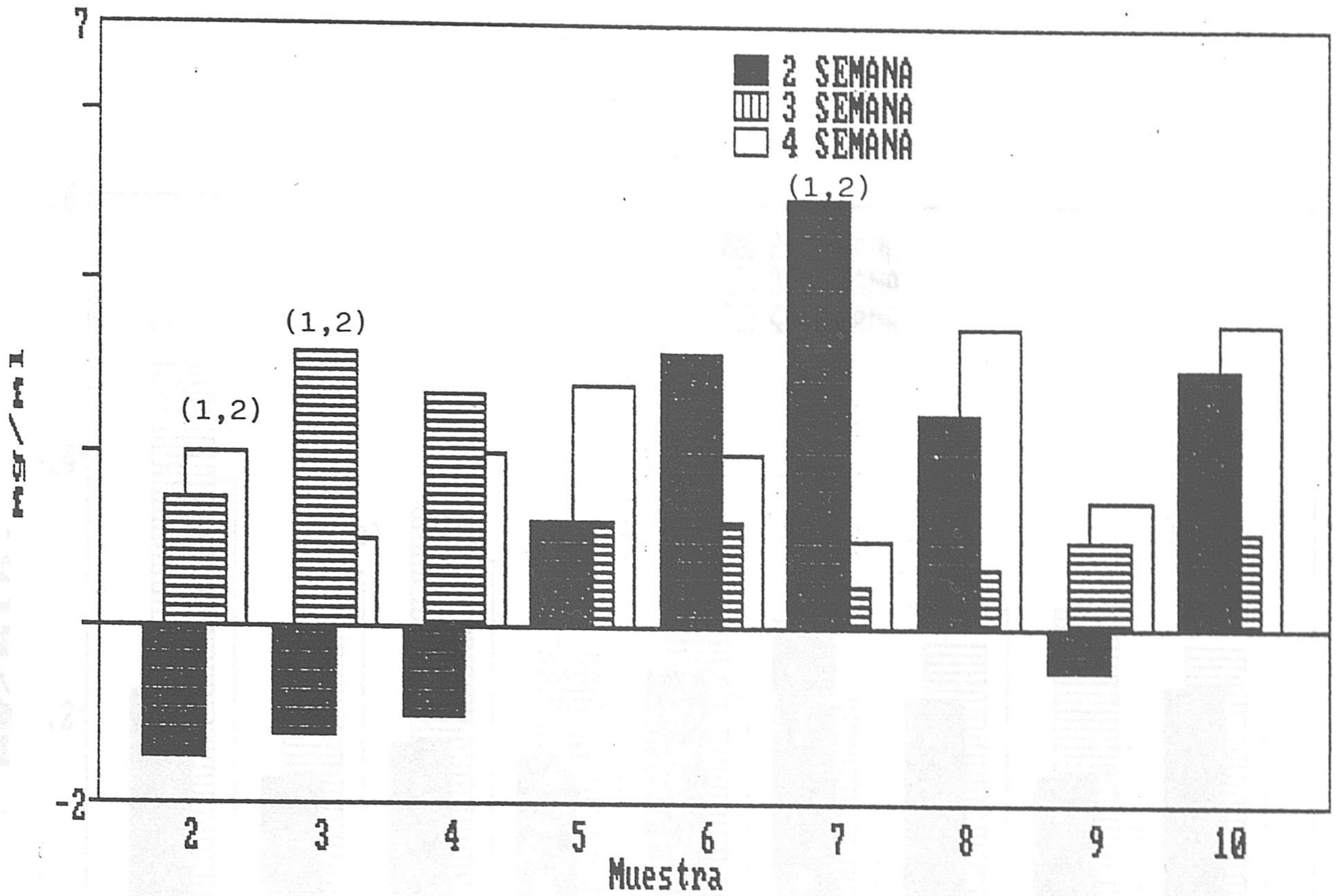




Fig. 14.- Variaciones con la edad en los incrementos postprandiales de la concentración de proteína total.

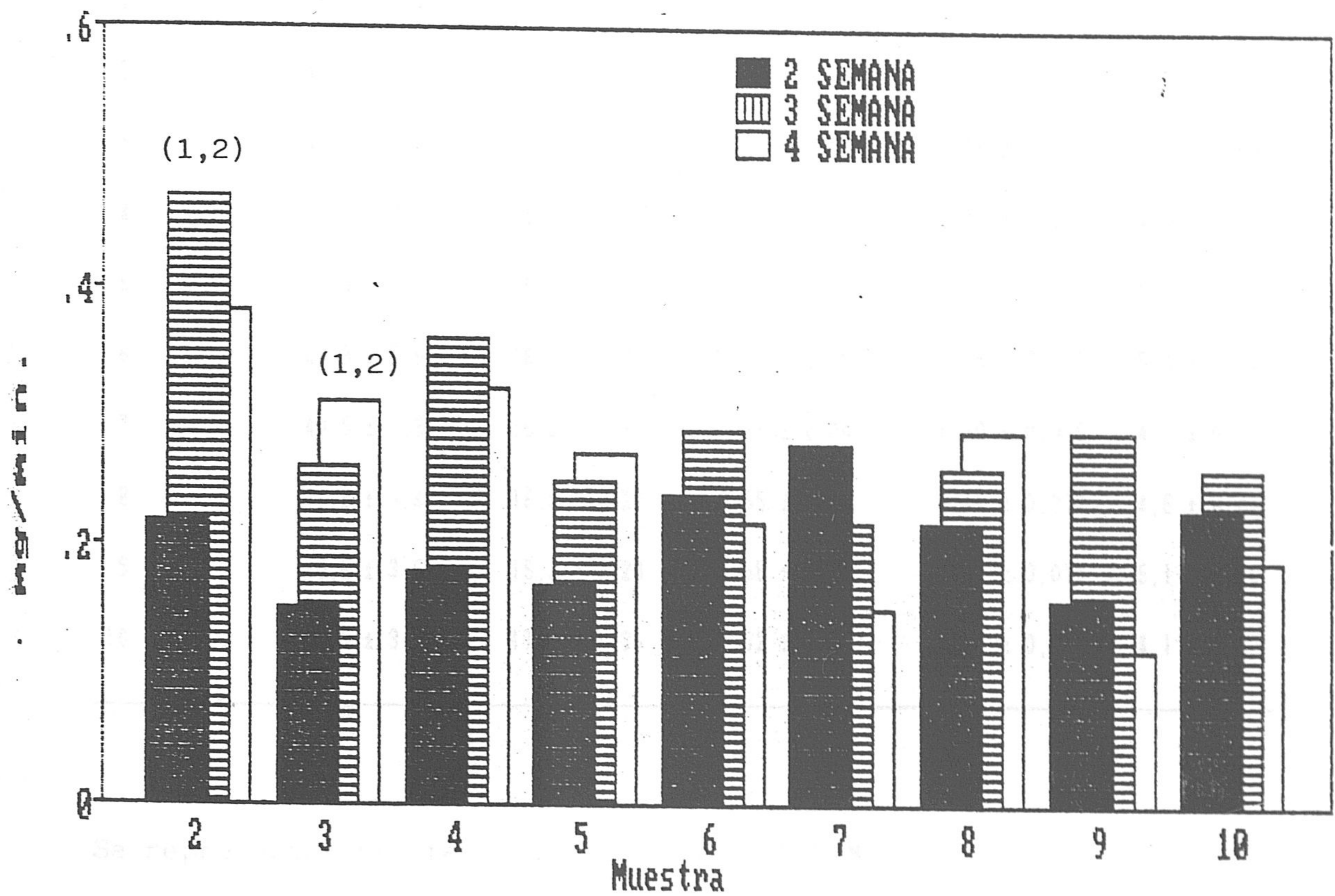


(1): Diferencias significativas entre la segunda y tercera semana

(2): Diferencias significativas entre la segunda y cuarta semana



Fig. 15.- Variaciones con la edad en los incrementos potprandiales de la secreción de proteínas.



(1): Diferencias significativas entre la segunda y tercera semana

(2): Diferencias significativas entre la segunda y cuarta semana



Tabla IIb.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra.

Muestra nº	Flujo µl/min,	Proteínas totales		Amilasa	
		mg/ml	mg/min,	U.A.A	UAA/min,
1	28,3 ± 2,46	14,8 ± 0,93	0,40 ± 0,04	0,07 ± 0,006	2,4 ± 0,33
2	48,9 ± 4,15	15,7 ± 0,97	0,75 ± 0,06	0,20 ± 0,026	9,9 ± 1,38
3	42,7 ± 3,47	15,4 ± 1,07	0,64 ± 0,06	0,11 ± 0,009	4,9 ± 0,49
4	42,9 ± 3,60	15,9 ± 0,92	0,69 ± 0,07	0,10 ± 0,007	4,4 ± 0,37
5	40,5 ± 3,23	16,6 ± 1,26	0,63 ± 0,05	0,12 ± 0,009	5,3 ± 0,64
6	40,9 ± 3,67	16,9 ± 1,28	0,65 ± 0,06	0,15 ± 0,013	6,4 ± 0,80
7	40,5 ± 3,37	16,8 ± 1,50	0,61 ± 0,04	0,10 ± 0,006	4,2 ± 0,36
8	41,9 ± 3,47	16,8 ± 1,28	0,65 ± 0,05	0,11 ± 0,011	4,6 ± 0,41
9	40,6 ± 3,66	15,3 ± 1,28	0,58 ± 0,06	0,12 ± 0,014	5,1 ± 0,80
10	40,5 ± 3,37	17,2 ± 1,35	0,62 ± 0,05	0,10 ± 0,007	4,1 ± 0,32

Se representan valores medios (n=20) ± E.E.M.



Tabla IIIb.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 2 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteínas totales		Amilasa	
		ng/ml	mg/min.	U.A.A	UAA/min.
1	22,2 ± 4,10	15,0 ± 1,89	0,29 ± 0,05	0,07 ± 0,007	2,2 ± 0,53
2	37,4 ± 5,61	13,6 ± 1,21	0,51 ± 0,13	0,28 ± 0,042	13,3 ± 2,38
3	35,4 ± 5,12	13,4 ± 1,07	0,44 ± 0,10	0,13 ± 0,020	5,8 ± 0,85
4	35,6 ± 6,22	14,0 ± 0,81	0,47 ± 0,10	0,11 ± 0,014	5,0 ± 0,32
5	33,5 ± 5,55	16,1 ± 2,26	0,46 ± 0,08	0,11 ± 0,021	4,0 ± 0,59
6	34,2 ± 6,15	18,1 ± 2,15	0,53 ± 0,09	0,19 ± 0,018	8,0 ± 0,59
7	34,7 ± 5,45	19,5 ± 2,88	0,57 ± 0,07	0,11 ± 0,012	4,8 ± 0,25
8	34,4 ± 5,07	17,2 ± 2,01	0,51 ± 0,08	0,11 ± 0,027	4,1 ± 0,68
9	33,3 ± 5,43	14,5 ± 1,00	0,45 ± 0,07	0,16 ± 0,029	6,9 ± 1,86
10	34,3 ± 5,74	17,8 ± 2,35	0,52 ± 0,06	0,08 ± 0,005	3,4 ± 0,25

Se representan los valores medios (n=7) ± E.E.M .



Tabla IVb.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 3 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteínas totales		Amilasa	
		mg/ml	mg/min.	U.A.A	UAA/min.
1	27,8 ± 3,25	12,0 ± 1,41	0,33 ± 0,05	0,05 ± 0,005	1,4 ± 0,16
2	57,9 ± 6,92	15,2 ± 1,50	0,82 ± 0,07	0,12 ± 0,033	5,8 ± 1,35
3	46,8 ± 6,50	13,5 ± 1,56	0,61 ± 0,11	0,09 ± 0,006	3,4 ± 0,38
4	48,0 ± 6,85	14,7 ± 1,24	0,71 ± 0,13	0,07 ± 0,002	3,1 ± 0,64
5	46,7 ± 5,96	13,3 ± 1,52	0,60 ± 0,09	0,13 ± 0,013	5,9 ± 1,76
6	47,7 ± 7,42	13,3 ± 1,76	0,64 ± 0,13	0,11 ± 0,011	4,9 ± 1,43
7	48,6 ± 7,52	12,4 ± 1,51	0,57 ± 0,09	0,09 ± 0,005	3,8 ± 0,97
8	49,8 ± 6,48	12,7 ± 1,64	0,61 ± 0,10	0,09 ± 0,005	4,2 ± 0,70
9	51,0 ± 8,48	12,8 ± 1,29	0,64 ± 0,12	0,08 ± 0,005	3,6 ± 0,49
10	48,9 ± 7,01	13,0 ± 1,33	0,61 ± 0,08	0,11 ± 0,018	4,8 ± 0,81

Se representan valores medios (n=7) ± E. E. M.



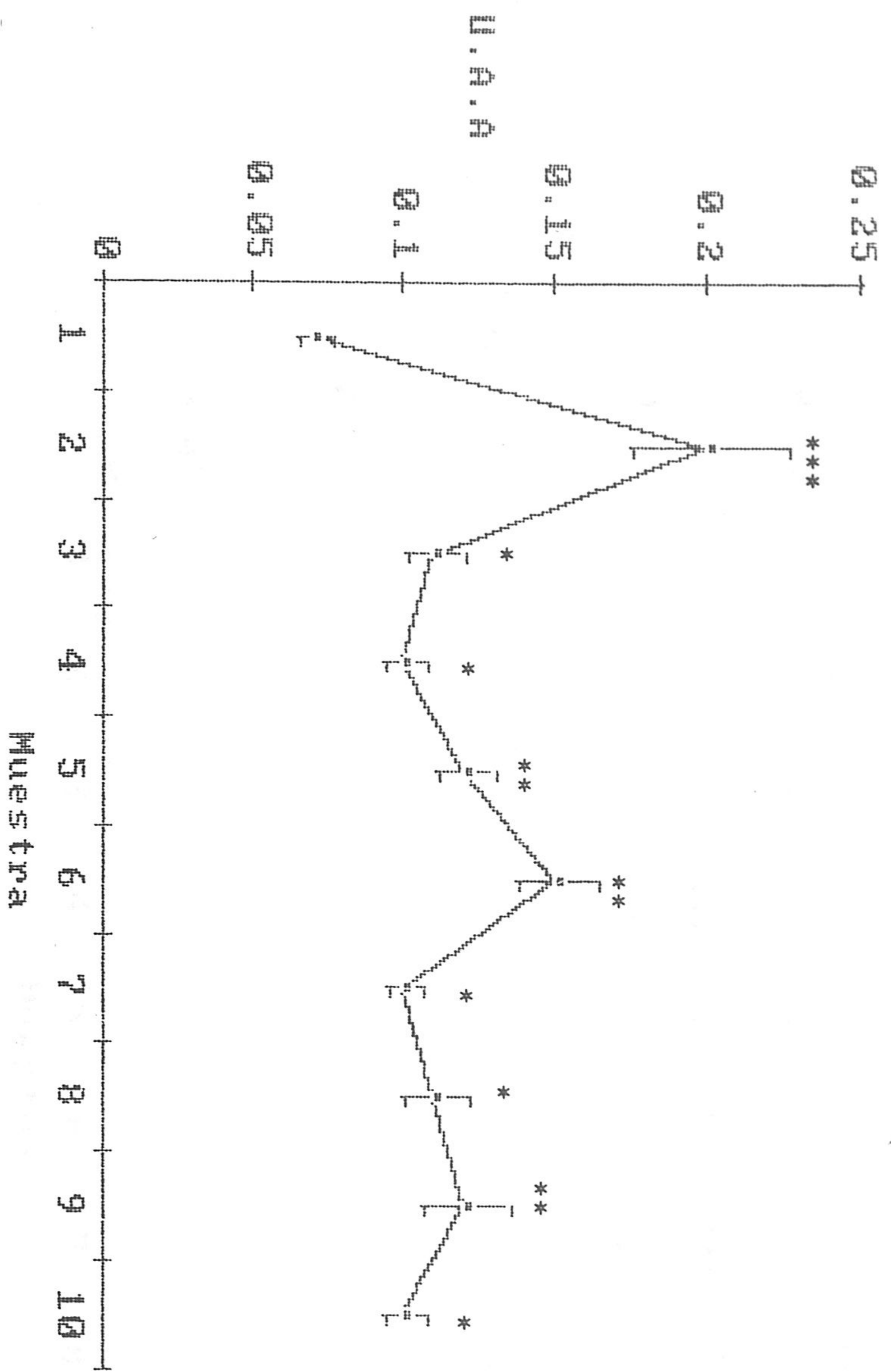
Tabla Vb.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 4 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteínas totales		Amilasa	
		mg/ml	mg/min.	U.A.A	UAA/min.
1	31,6 ± 2,66	17,0 ± 0,94	0,53 ± 0,04	0,10 ± 0,007	3,6 ± 0,29
2	52,8 ± 5,27	18,0 ± 1,93	0,91 ± 0,06	0,19 ± 0,010	10,8 ± 1,92
3	46,4 ± 3,77	19,0 ± 2,07	0,84 ± 0,05	0,12 ± 0,005	5,5 ± 0,81
4	45,8 ± 4,20	19,0 ± 1,89	0,85 ± 0,09	0,11 ± 0,007	5,1 ± 0,41
5	42,1 ± 3,51	19,8 ± 2,09	0,80 ± 0,04	0,14 ± 0,005	6,1 ± 0,44
6	41,9 ± 4,16	18,9 ± 2,32	0,75 ± 0,05	0,14 ± 0,020	6,4 ± 1,76
7	39,5 ± 2,35	17,9 ± 2,49	0,68 ± 0,07	0,10 ± 0,005	4,0 ± 0,48
8	42,7 ± 3,24	20,1 ± 2,15	0,82 ± 0,03	0,12 ± 0,010	5,4 ± 0,73
9	39,0 ± 1,96	18,1 ± 3,23	0,65 ± 0,12	0,12 ± 0,003	4,5 ± 0,23
10	38,4 ± 2,40	20,6 ± 2,75	0,72 ± 0,09	0,11 ± 0,007	4,4 ± 0,44

Se representan valores medios (n=6) ± E. E. M.



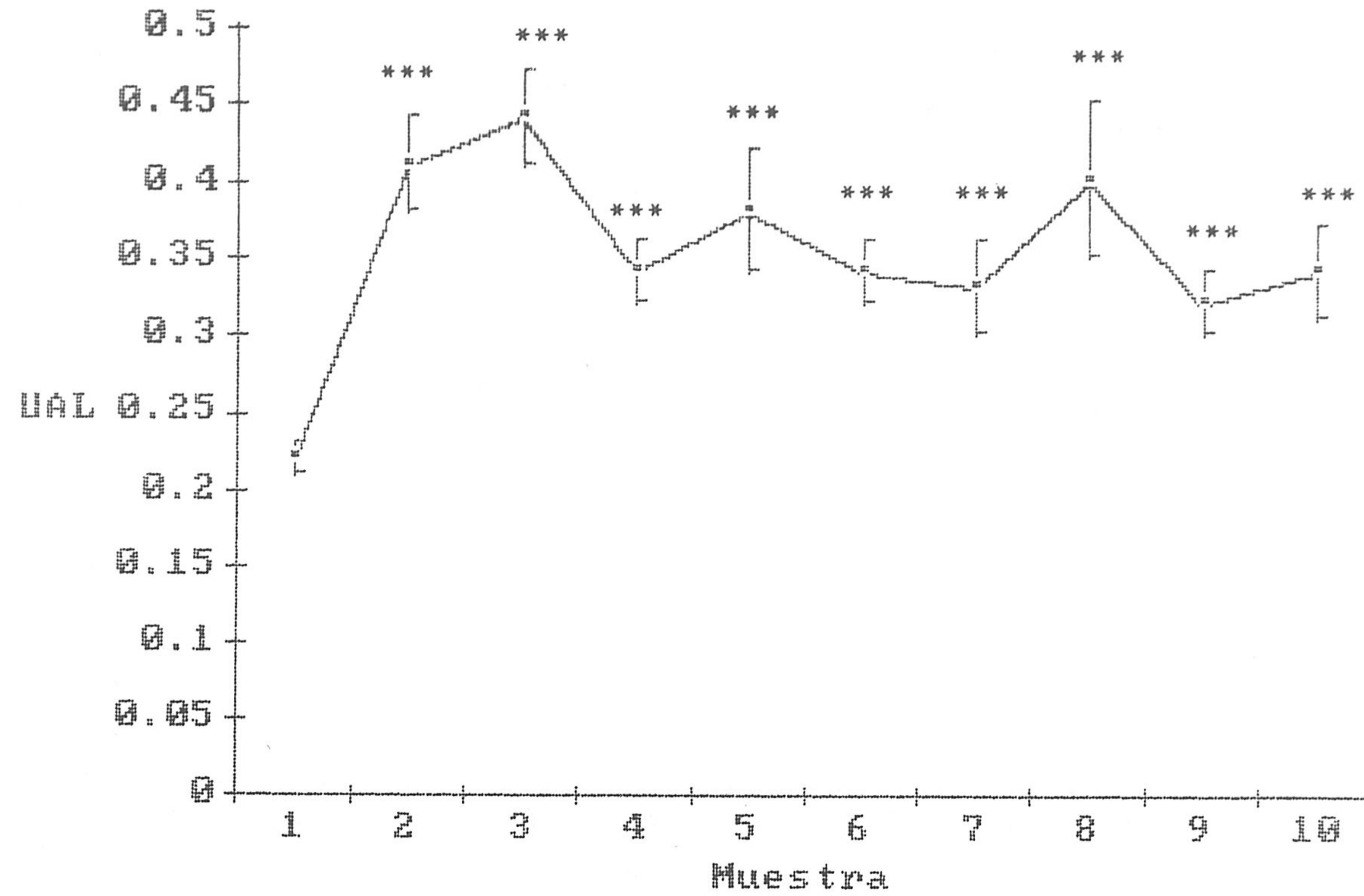
Fig. 16.- Valores medios de la actividad amilásica del jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con leche.



\*\*\* p < 0.001  
 \*\* p < 0.001  
 \* p < 0.05



Fig. 17.- Valores medios de la actividad lipásica del jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con leche.



\*\*\*  $p < 0.001$



Fig. 18.- Valores medios de la actividad quimiotrípica en el jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con leche.

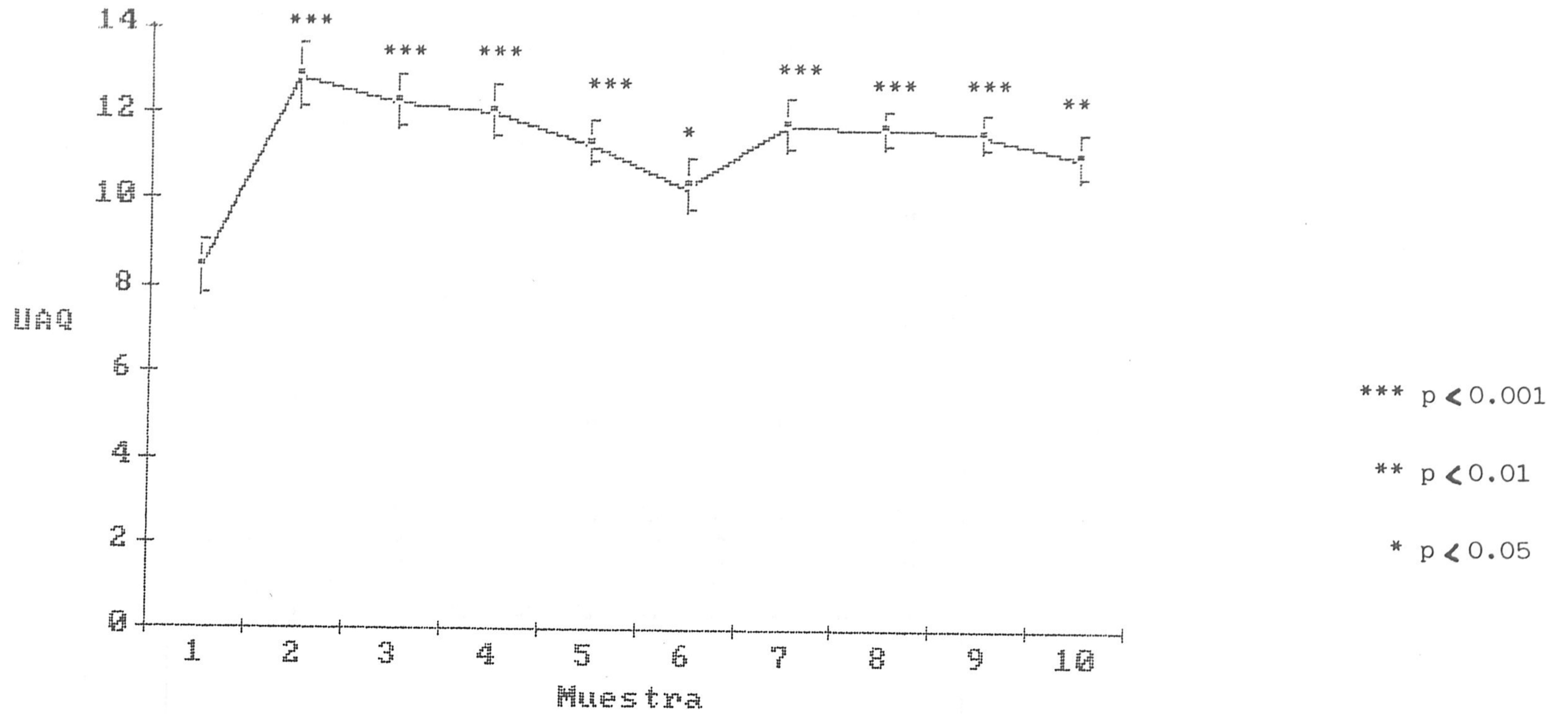




Tabla IIc.- Secreción pancreática exocrina en respuesta a la alimentación con leche de cabra.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteína total mg/ml	U.A.L	Lipasa UAL/min.	UAL/mg
1	28,3 ± 2,46	14,8 ± 0,93	0,22 ± 0,014	0,06 ± 0,01	0,14 ± 0,012
2	48,9 ± 4,15	15,7 ± 0,97	0,41 ± 0,030	0,20 ± 0,02	0,27 ± 0,021
3	42,7 ± 3,47	15,4 ± 1,07	0,45 ± 0,030	0,20 ± 0,02	0,31 ± 0,024
4	42,9 ± 3,60	15,9 ± 0,92	0,34 ± 0,020	0,15 ± 0,02	0,22 ± 0,016
5	40,5 ± 3,23	16,6 ± 1,26	0,38 ± 0,043	0,15 ± 0,02	0,25 ± 0,032
6	40,9 ± 3,67	16,9 ± 1,28	0,34 ± 0,019	0,14 ± 0,01	0,22 ± 0,020
7	40,5 ± 3,37	16,8 ± 1,50	0,33 ± 0,026	0,13 ± 0,01	0,23 ± 0,023
8	41,9 ± 3,47	16,8 ± 1,28	0,40 ± 0,046	0,17 ± 0,02	0,28 ± 0,038
9	40,6 ± 3,66	15,3 ± 1,28	0,32 ± 0,018	0,13 ± 0,01	0,23 ± 0,020
10	40,5 ± 3,37	17,2 ± 1,35	0,34 ± 0,030	0,15 ± 0,02	0,23 ± 0,027

Se representan valores medios (n=20) ± E.E.M



Tabla IIId. - Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra.

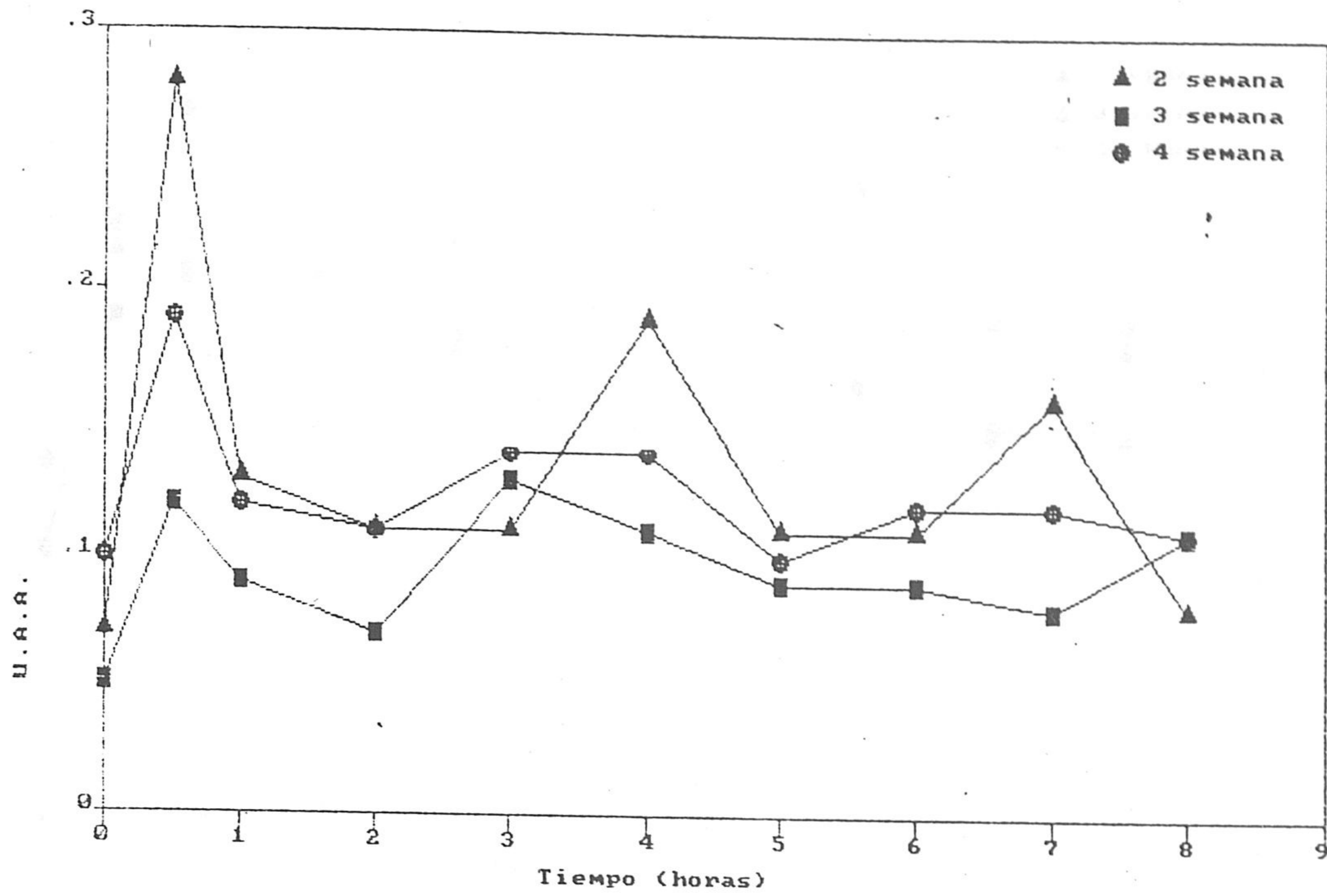
Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteína total mg/ml	U.A.Q	Quimiotripsina UAQ/min.	UAQ/mg
1	28,3 ± 2,46	14,8 ± 0,93	8,4 ± 0,60	2,5 ± 0,36	6,6 ± 0,90
2	48,9 ± 4,15	15,7 ± 0,97	12,8 ± 0,69	6,6 ± 0,82	9,1 ± 1,02
3	42,7 ± 3,47	15,4 ± 1,07	12,2 ± 0,60	5,4 ± 0,60	8,6 ± 1,12
4	42,9 ± 3,60	15,9 ± 0,92	12,0 ± 0,58	5,2 ± 0,52	8,2 ± 0,72
5	40,5 ± 3,23	16,6 ± 1,26	11,3 ± 0,48	4,7 ± 0,45	8,1 ± 1,00
6	40,9 ± 3,67	16,9 ± 1,28	10,3 ± 0,59	4,5 ± 0,53	7,1 ± 0,77
7	40,5 ± 3,37	16,8 ± 1,50	11,7 ± 0,56	5,0 ± 0,57	8,5 ± 1,10
8	41,9 ± 3,47	16,8 ± 1,28	11,6 ± 0,44	5,1 ± 0,52	8,1 ± 0,90
9	40,6 ± 3,66	15,3 ± 1,28	11,5 ± 0,41	4,8 ± 0,52	8,4 ± 0,68
10	40,5 ± 3,37	17,2 ± 1,35	11,0 ± 0,52	4,6 ± 0,47	7,4 ± 0,75

Se representan valores medios (n=20) ± E.E.M

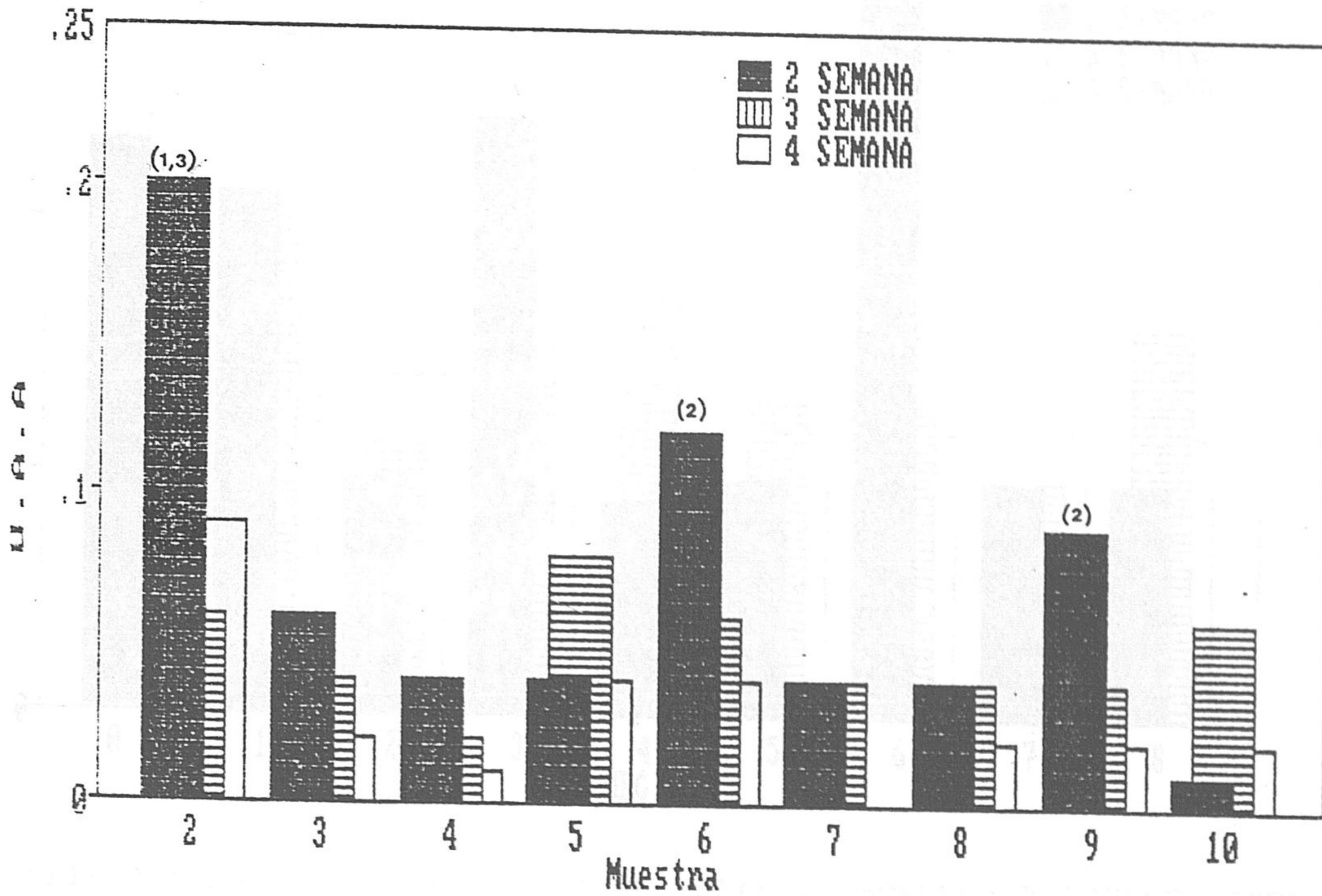


Fig. 19.- Variaciones con la edad de la actividad amilásica en respuesta a la alimentación con leche

A: Valores absolutos



B: Incrementos con respecto al basal

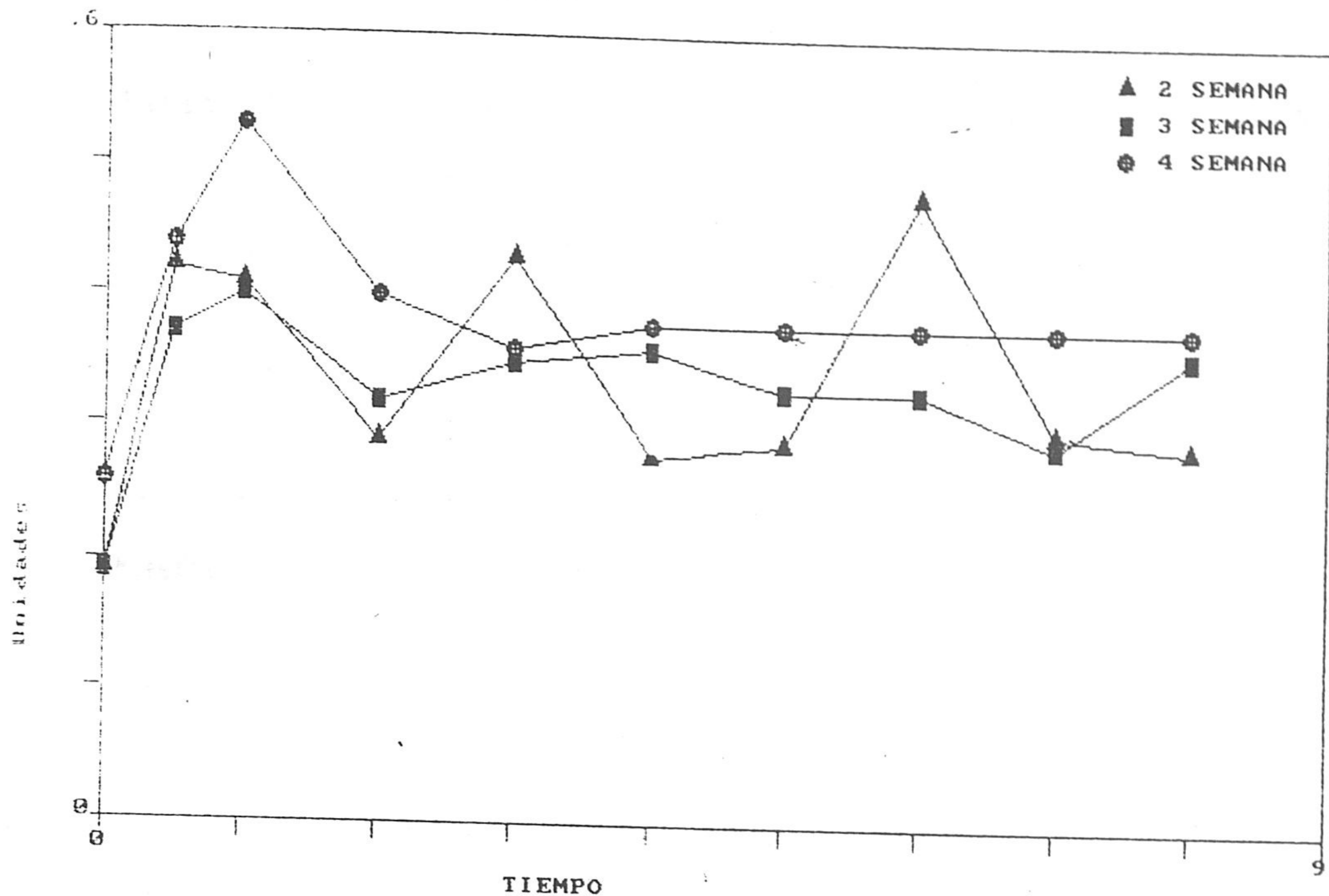


- (1): Diferencias significativas entre la segunda y tercera semana
- (2): Diferencias significativas entre la segunda y cuarta semana
- (3): Diferencias significativas entre la tercera y cuarta semana

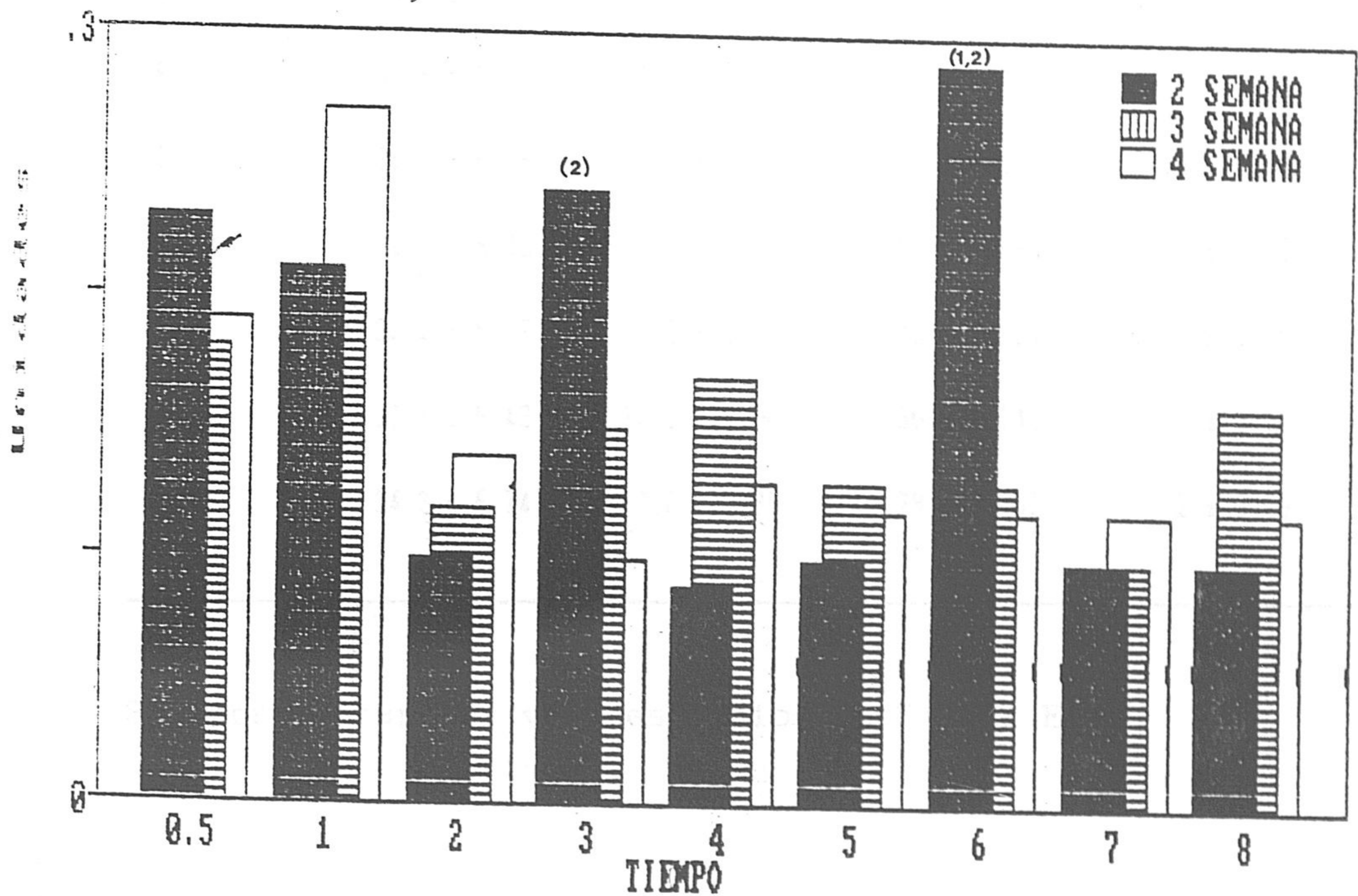


Fig. 20.- Variaciones con la edad de la actividad lipásica en respuesta a la alimentación con leche

A: Valores absolutos



B: Incrementos con respecto al basal



(1): Diferencias significativas entre la segunda y tercera semana  
 (2): Diferencias significativas entre la segunda y cuarta semana



Tabla IIIc.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 2 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min,	Proteína total mg/ml	- U.A.L	Lipasa UAL/min,	- UAL/mg
1	22,2 ± 4,10	15,0 ± 1,89	0,19 ± 0,029	0,04 ± 0,01	0,11 ± 0,012
2	37,4 ± 5,61	13,6 ± 1,21	0,42 ± 0,083	0,16 ± 0,04	0,24 ± 0,016
3	35,4 ± 5,12	13,4 ± 1,07	0,41 ± 0,058	0,17 ± 0,05	0,33 ± 0,058
4	35,6 ± 6,22	14,0 ± 0,81	0,29 ± 0,043	0,10 ± 0,02	0,20 ± 0,029
5	33,5 ± 5,55	16,1 ± 2,26	0,43 ± 0,123	0,14 ± 0,04	0,29 ± 0,084
6	34,2 ± 6,15	18,1 ± 2,15	0,28 ± 0,029	0,09 ± 0,02	0,17 ± 0,026
7	34,7 ± 5,45	19,5 ± 2,88	0,29 ± 0,060	0,10 ± 0,02	0,17 ± 0,046
8	34,4 ± 5,07	17,2 ± 2,01	0,48 ± 0,124	0,18 ± 0,06	0,32 ± 0,086
9	33,3 ± 5,43	14,5 ± 1,00	0,30 ± 0,043	0,10 ± 0,02	0,21 ± 0,031
10	34,3 ± 5,74	17,8 ± 2,35	0,29 ± 0,082	0,12 ± 0,05	0,19 ± 0,062

Se representan los valores medios (n=7) ± E. E. M.



Tabla IVc.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 3 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteína total mg/ml	U.A.L	Lipasa UAL/min.	UAL/mg
1	27,8 ± 3,25	12,0 ± 1,41	0,19 ± 0,015	0,05 ± 0,01	0,18 ± 0,021
2	57,9 ± 6,92	15,2 ± 1,50	0,37 ± 0,026	0,22 ± 0,04	0,31 ± 0,062
3	46,8 ± 6,50	13,5 ± 1,56	0,40 ± 0,037	0,18 ± 0,02	0,31 ± 0,030
4	48,0 ± 6,85	14,7 ± 1,24	0,32 ± 0,024	0,16 ± 0,03	0,22 ± 0,024
5	46,7 ± 5,96	13,3 ± 1,52	0,35 ± 0,034	0,16 ± 0,03	0,27 ± 0,031
6	47,7 ± 7,42	13,3 ± 1,76	0,36 ± 0,039	0,17 ± 0,02	0,29 ± 0,042
7	48,6 ± 7,52	12,4 ± 1,51	0,33 ± 0,034	0,15 ± 0,01	0,29 ± 0,043
8	49,8 ± 6,48	12,7 ± 1,64	0,33 ± 0,034	0,16 ± 0,02	0,32 ± 0,060
9	51,0 ± 8,48	12,8 ± 1,29	0,29 ± 0,020	0,16 ± 0,04	0,25 ± 0,054
10	48,9 ± 7,01	13,0 ± 1,33	0,36 ± 0,021	0,18 ± 0,03	0,29 ± 0,042

Se representan valores medios (n=7) ± E.E.M.



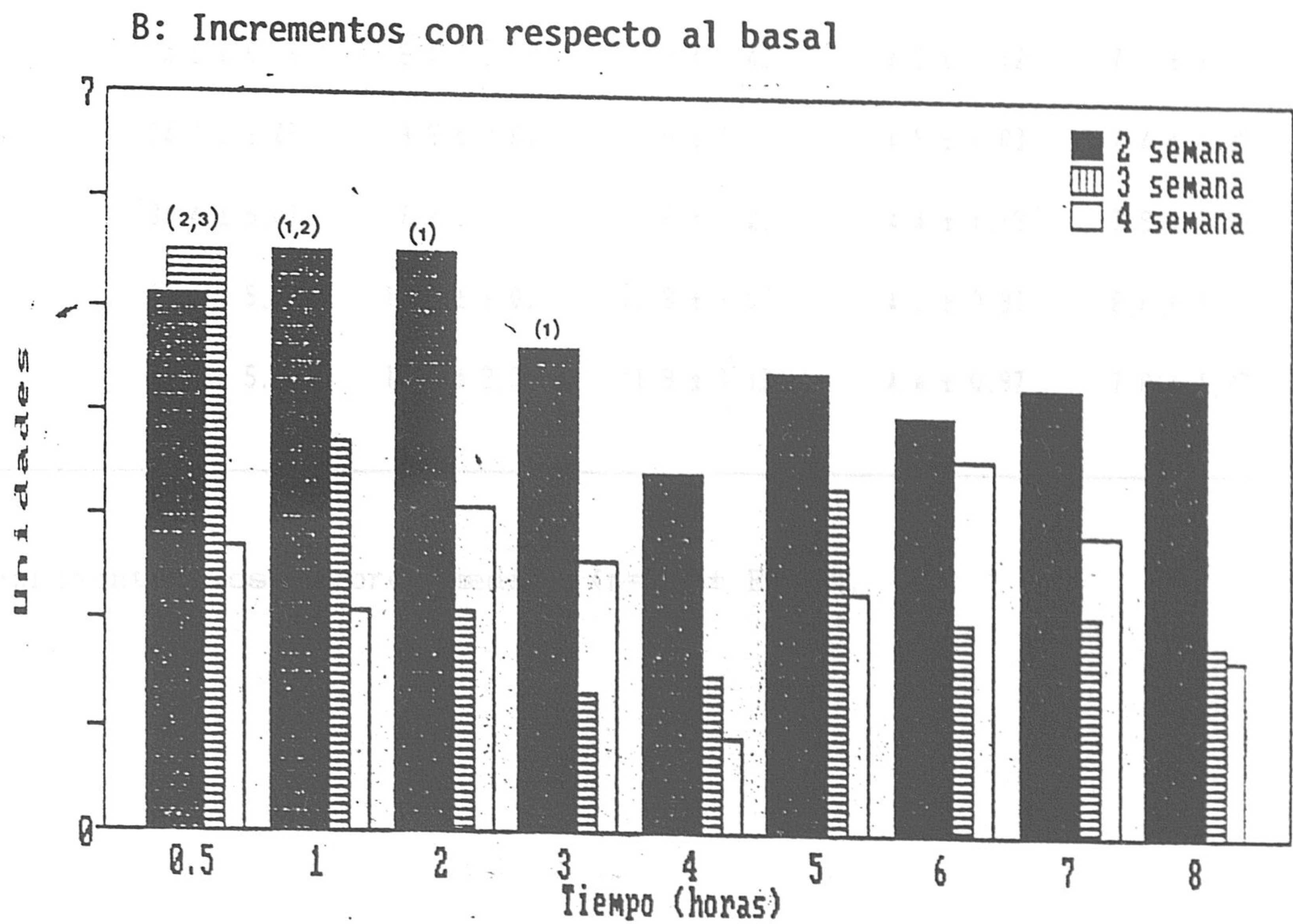
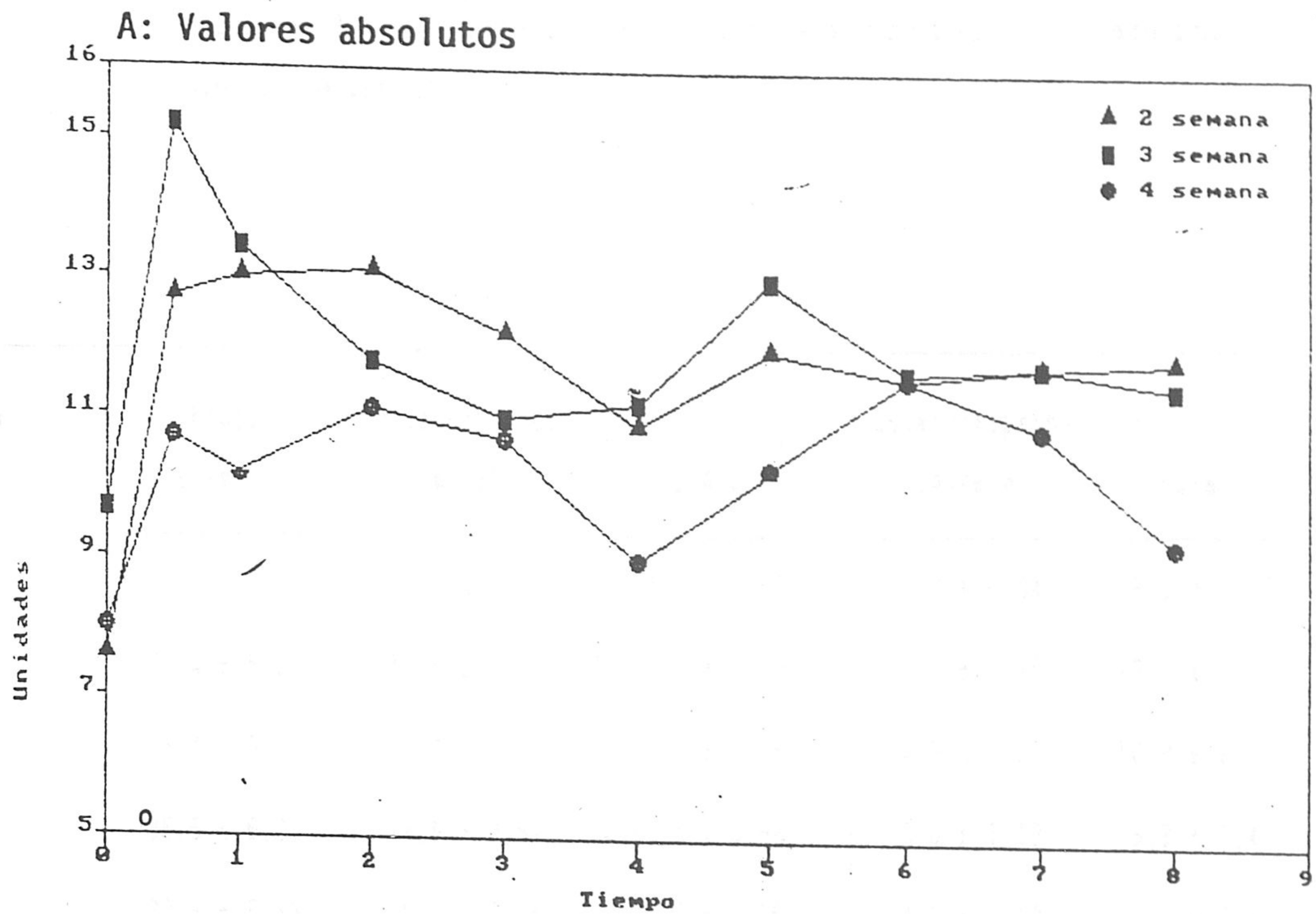
Tabla Vc.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 4 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteínas totales mg/ml	- U.A.L	Lipasa UAL/min.	- UAL/mg
1	31,6 ± 2,55	17,0 ± 0,94	0,26 ± 0,018	0,08 ± 0,01	0,14 ± 0,022
2	52,8 ± 5,27	18,0 ± 1,93	0,44 ± 0,017	0,23 ± 0,02	0,27 ± 0,027
3	46,4 ± 3,77	19,0 ± 2,07	0,53 ± 0,044	0,24 ± 0,02	0,29 ± 0,032
4	45,8 ± 4,20	19,0 ± 1,89	0,40 ± 0,021	0,18 ± 0,01	0,23 ± 0,032
5	42,1 ± 3,51	19,8 ± 2,09	0,36 ± 0,025	0,15 ± 0,01	0,19 ± 0,017
6	41,9 ± 4,16	18,9 ± 2,32	0,38 ± 0,016	0,16 ± 0,02	0,22 ± 0,023
7	39,5 ± 2,35	17,9 ± 2,49	0,38 ± 0,030	0,15 ± 0,01	0,23 ± 0,024
8	42,7 ± 3,24	20,1 ± 2,15	0,38 ± 0,037	0,17 ± 0,03	0,21 ± 0,040
9	39,0 ± 1,96	18,1 ± 3,23	0,38 ± 0,012	0,15 ± 0,01	0,24 ± 0,034
10	38,4 ± 2,40	20,6 ± 2,75	0,38 ± 0,030	0,15 ± 0,01	0,21 ± 0,034

Se representan valores medios (n=6) ± E. E. M.



Fig. 21.- Variaciones con la edad de la actividad quimitrípica en respuesta a la alimentación con leche



(1): Diferencias significativas entre la segunda y tercera semana  
 (2): Diferencias significativas entre la segunda y cuarta semana  
 (3): Diferencias significativas entre la tercera y cuarta semana



Tabla IIIId.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 2 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteína total mg/ml	- U.A.Q	Quimiotripsina UAQ/min.	- UAQ/mg
1	22,2 ± 4,10	15,0 ± 1,89	7,6 ± 0,97	1,9 ± 0,54	6,5 ± 1,93
2	37,4 ± 5,61	13,6 ± 1,21	12,7 ± 0,80	5,1 ± 1,19	10,1 ± 1,53
3	35,4 ± 5,12	13,4 ± 1,07	13,0 ± 0,89	4,9 ± 1,21	10,8 ± 2,00
4	35,6 ± 6,22	14,0 ± 0,81	13,1 ± 0,96	5,0 ± 1,19	9,9 ± 1,41
5	33,5 ± 5,55	16,1 ± 2,26	12,2 ± 1,26	4,5 ± 1,10	9,7 ± 2,39
6	34,2 ± 6,15	18,1 ± 2,15	10,9 ± 1,42	4,2 ± 1,12	7,1 ± 1,33
7	34,7 ± 5,45	19,5 ± 2,88	12,0 ± 1,10	4,5 ± 1,03	7,4 ± 1,29
8	34,4 ± 5,07	17,2 ± 2,01	11,6 ± 1,23	4,4 ± 1,18	7,9 ± 1,59
9	33,3 ± 5,43	14,5 ± 1,00	11,8 ± 1,07	4,2 ± 0,92	8,6 ± 1,16
10	34,3 ± 5,74	17,8 ± 2,35	11,9 ± 1,17	4,4 ± 0,97	7,8 ± 1,37

Se representan los valores medios (n=7) ± E. E. M.



Tabla IVd.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 3 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteína total mg/ml	- U.A.Q	Quiniotripsina UAQ/min.	- UAQ/mg
1	27,8 ± 3,25	12,0 ± 1,41	9,7 ± 0,80	2,8 ± 0,68	8,9 ± 1,56
2	57,9 ± 6,92	15,2 ± 1,50	15,2 ± 1,50	9,0 ± 1,61	11,1 ± 2,31
3	45,8 ± 6,50	13,5 ± 1,56	13,4 ± 0,76	6,4 ± 1,16	9,4 ± 2,47
4	48,0 ± 6,85	14,7 ± 1,24	11,8 ± 0,28	5,7 ± 0,88	8,2 ± 0,56
5	46,7 ± 5,96	13,3 ± 1,52	11,0 ± 0,23	5,2 ± 0,69	9,1 ± 1,42
6	47,7 ± 7,42	13,3 ± 1,76	11,2 ± 0,22	5,4 ± 0,89	9,4 ± 1,47
7	48,6 ± 7,52	12,4 ± 1,51	13,0 ± 0,57	6,5 ± 1,25	12,1 ± 2,78
8	49,8 ± 6,48	12,7 ± 1,64	11,7 ± 0,51	5,9 ± 0,94	10,5 ± 2,04
9	51,0 ± 8,48	12,8 ± 1,29	11,8 ± 0,57	6,2 ± 1,29	9,8 ± 1,29
10	48,9 ± 7,01	13,0 ± 1,33	11,5 ± 0,16	5,7 ± 0,87	9,5 ± 1,22

Se representan valores medios (n=7) ± E.E.M.



Tabla Vd.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 4 semanas.

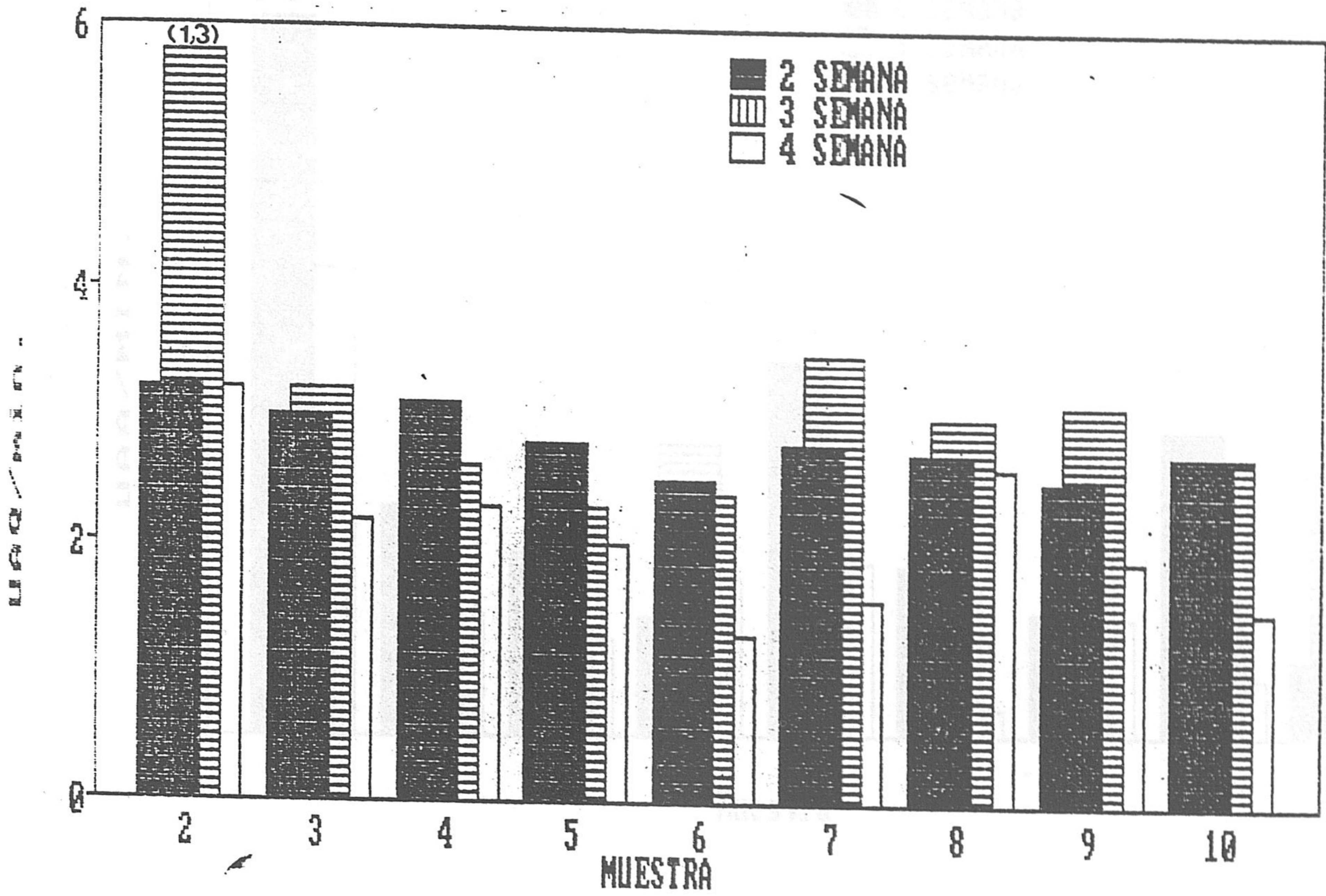
Fig. 22.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con leche de cabra. Ensayos realizados en cabritos de 4 semanas.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteínas totales mg/ml	Quimiotripsina		
			U.A.Q	UAQ/min.	UAQ/mg
1	31,6 ± 2,66	17,0 ± 0,94	8,0 ± 1,22	2,7 ± 0,62	4,8 ± 0,78
2	52,8 ± 5,27	18,0 ± 1,93	10,7 ± 1,25	5,9 ± 1,21	6,5 ± 1,17
3	46,4 ± 3,77	19,0 ± 2,07	10,2 ± 1,04	4,9 ± 0,81	5,9 ± 0,97
4	45,8 ± 4,20	19,0 ± 1,89	11,1 ± 1,32	5,0 ± 0,65	6,5 ± 1,20
5	42,1 ± 3,51	19,8 ± 2,09	10,7 ± 0,47	4,5 ± 0,48	5,8 ± 0,71
6	41,9 ± 4,16	18,9 ± 2,32	9,0 ± 0,80	3,9 ± 0,72	5,2 ± 0,81
7	39,5 ± 2,35	17,9 ± 2,49	10,3 ± 0,89	4,2 ± 0,55	6,6 ± 1,04
8	42,7 ± 3,24	20,1 ± 2,15	11,6 ± 0,21	5,0 ± 0,46	6,3 ± 0,71
9	39,0 ± 1,96	18,1 ± 3,23	10,9 ± 0,23	4,3 ± 0,27	7,1 ± 1,00
10	38,4 ± 2,40	20,6 ± 2,75	9,3 ± 0,76	3,9 ± 0,52	5,1 ± 1,01

Se representan valores medios (n=6) ± E.E.M.



Fig. 22.- Variaciones con la edad en los incrementos postprandiales de la secreción de quimiotripsina

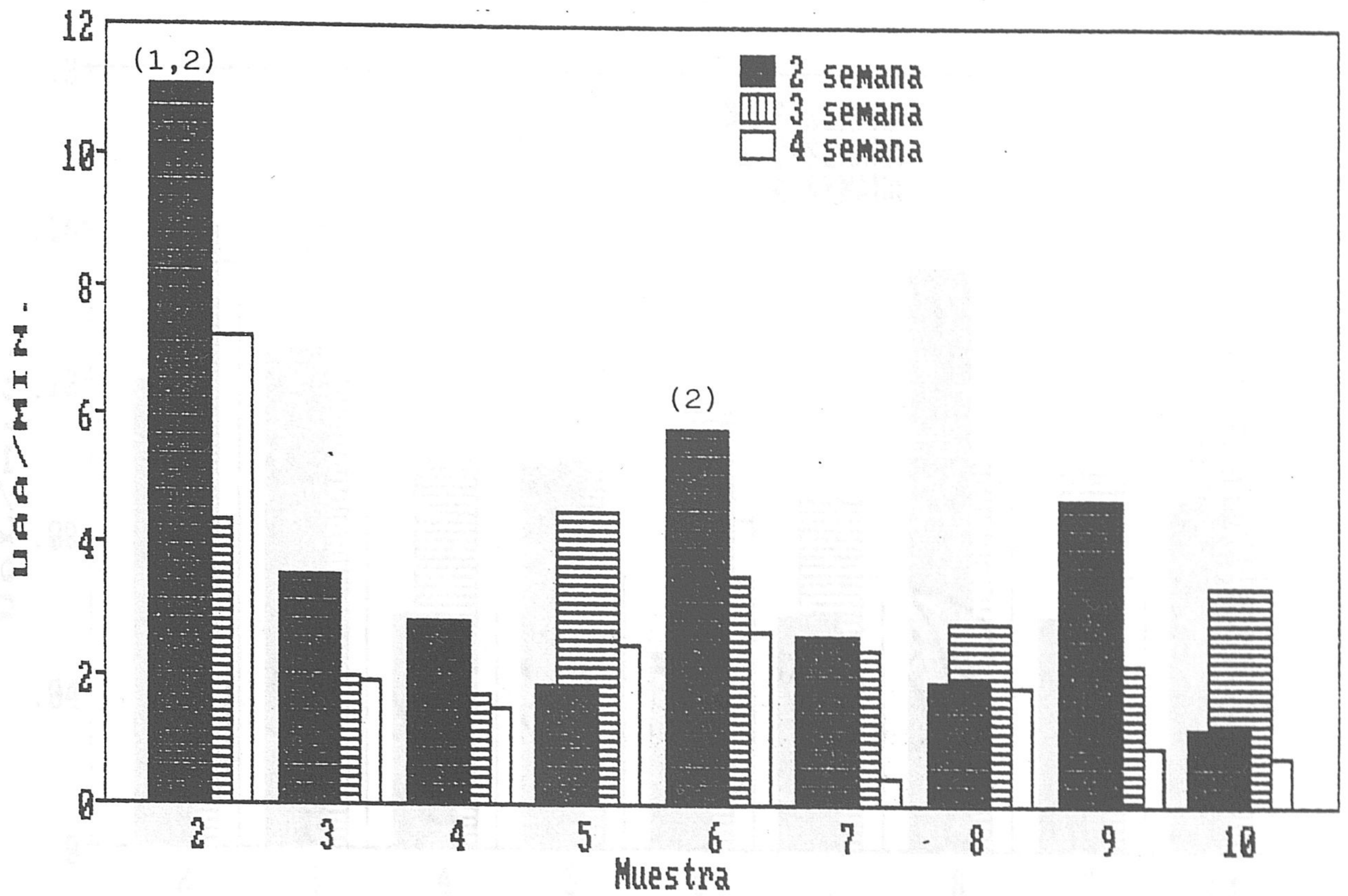


(1): Diferencias significativas entre la segunda y tercera semana

(3): Diferencias significativas entre la tercera y cuarta semana



Fig. 23.- Variaciones con la edad en los incrementos postprandiales de la secreción de amilasa.



(1): Diferencias significativas entre la segunda y tercera semana

(2): Diferencias significativas entre la segunda y cuarta semana



Fig. 24.- Variaciones con la edad en los incrementos postprandiales de la secreción de lipasa.

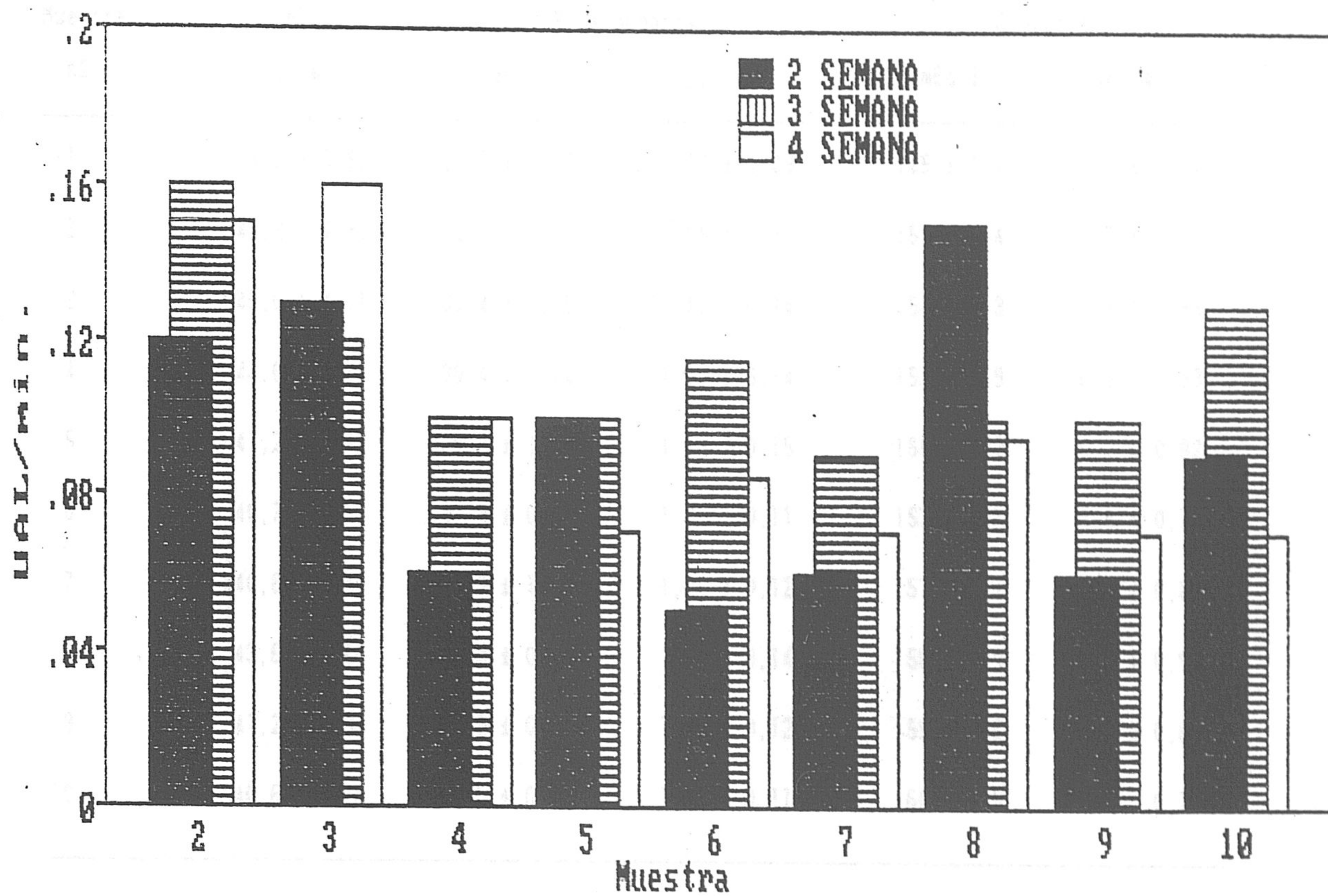




Tabla VIa.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con un sustituto lácteo

Muestra nº	Flujo µl/min.	Bicarbonatos		Cloruros	
		mEq/l	µEq/min.	mEq/l	µEq/min.
1	34,6 ± 3,53	23,3 ± 0,63	0,77 ± 0,09	165 ± 1,1	5,7 ± 0,74
2	49,2 ± 4,88	32,8 ± 1,55	1,55 ± 0,15	153 ± 1,4	7,7 ± 0,93
3	45,6 ± 4,17	31,4 ± 1,05	1,42 ± 0,14	154 ± 1,3	7,2 ± 0,83
4	44,6 ± 4,34	30,4 ± 1,14	1,32 ± 0,14	155 ± 1,9	6,9 ± 0,83
5	41,2 ± 4,42	29,7 ± 1,06	1,18 ± 0,15	155 ± 2,2	6,2 ± 0,82
6	40,7 ± 3,87	27,5 ± 0,70	1,08 ± 0,11	157 ± 1,6	6,4 ± 0,76
7	40,6 ± 4,45	27,2 ± 1,01	1,06 ± 0,12	157 ± 2,1	6,4 ± 0,88
8	43,6 ± 5,10	26,4 ± 0,86	1,11 ± 0,14	158 ± 1,9	6,9 ± 0,98
9	41,2 ± 4,97	26,5 ± 0,77	1,08 ± 0,12	159 ± 1,5	6,6 ± 0,80
10	40,6 ± 4,76	26,5 ± 0,92	1,04 ± 0,11	160 ± 1,5	6,5 ± 0,76

Se representan valores medios (n=20) ± E.E.M.



Tabla VIb.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con un sustituto lácteo.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteínas totales		Amilasa	
		mg/ml	mg/min.	U.A.A	UAA/min.
1	34,6 ± 3,53	11,5 ± 0,66	0,42 ± 0,07	0,15 ± 0,026	5,3 ± 1,31
2	49,2 ± 4,88	12,8 ± 0,78	0,65 ± 0,09	0,22 ± 0,054	12,2 ± 4,84
3	45,6 ± 4,17	11,8 ± 0,56	0,56 ± 0,07	0,14 ± 0,036	7,3 ± 2,38
4	44,6 ± 4,34	12,8 ± 0,91	0,57 ± 0,07	0,12 ± 0,035	5,6 ± 1,69
5	41,2 ± 4,42	13,5 ± 1,10	0,56 ± 0,08	0,13 ± 0,037	5,6 ± 1,72
6	40,7 ± 3,87	14,0 ± 0,97	0,56 ± 0,07	0,13 ± 0,048	5,2 ± 1,81
7	40,6 ± 4,45	12,7 ± 1,00	0,51 ± 0,08	0,11 ± 0,035	3,8 ± 0,90
8	43,6 ± 5,10	14,0 ± 1,07	0,63 ± 0,11	0,14 ± 0,041	6,3 ± 2,22
9	41,2 ± 3,97	13,4 ± 0,98	0,55 ± 0,08	0,12 ± 0,044	4,9 ± 1,53
10	40,6 ± 3,76	13,6 ± 1,13	0,57 ± 0,09	0,14 ± 0,048	5,4 ± 1,61

Se representan valores medios (n=20) ± E.E.M.



Tabla VIc.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con un sustituto lácteo.

Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteína total mg/ml	- U.A.L	Lipasa UAL/min.	- UAL/mg
1	34,6 ± 3,53	11,5 ± 0,66	0,12 ± 0,013	0,04 ± 0,01	0,10 ± 0,011
2	49,2 ± 4,88	12,8 ± 0,78	0,27 ± 0,028	0,15 ± 0,03	0,22 ± 0,023
3	45,6 ± 4,17	11,8 ± 0,56	0,34 ± 0,038	0,16 ± 0,03	0,29 ± 0,032
4	44,6 ± 4,34	12,8 ± 0,91	0,27 ± 0,036	0,12 ± 0,02	0,22 ± 0,027
5	41,2 ± 4,42	13,5 ± 1,10	0,22 ± 0,028	0,10 ± 0,02	0,17 ± 0,023
6	40,7 ± 3,87	14,0 ± 0,97	0,17 ± 0,020	0,09 ± 0,02	0,13 ± 0,014
7	40,6 ± 4,45	12,7 ± 1,00	0,18 ± 0,020	0,09 ± 0,02	0,15 ± 0,020
8	43,6 ± 5,10	14,0 ± 1,07	0,22 ± 0,027	0,11 ± 0,03	0,18 ± 0,023
9	41,2 ± 3,97	13,4 ± 0,98	0,23 ± 0,025	0,10 ± 0,02	0,19 ± 0,025
10	40,6 ± 3,76	13,6 ± 1,13	0,23 ± 0,035	0,09 ± 0,02	0,18 ± 0,034

Se representan valores medios (n=20) ± E.E.M.



Tabla VIId.- Secreción pancreática en respuesta a la alimentación con un sustituto lácteo.

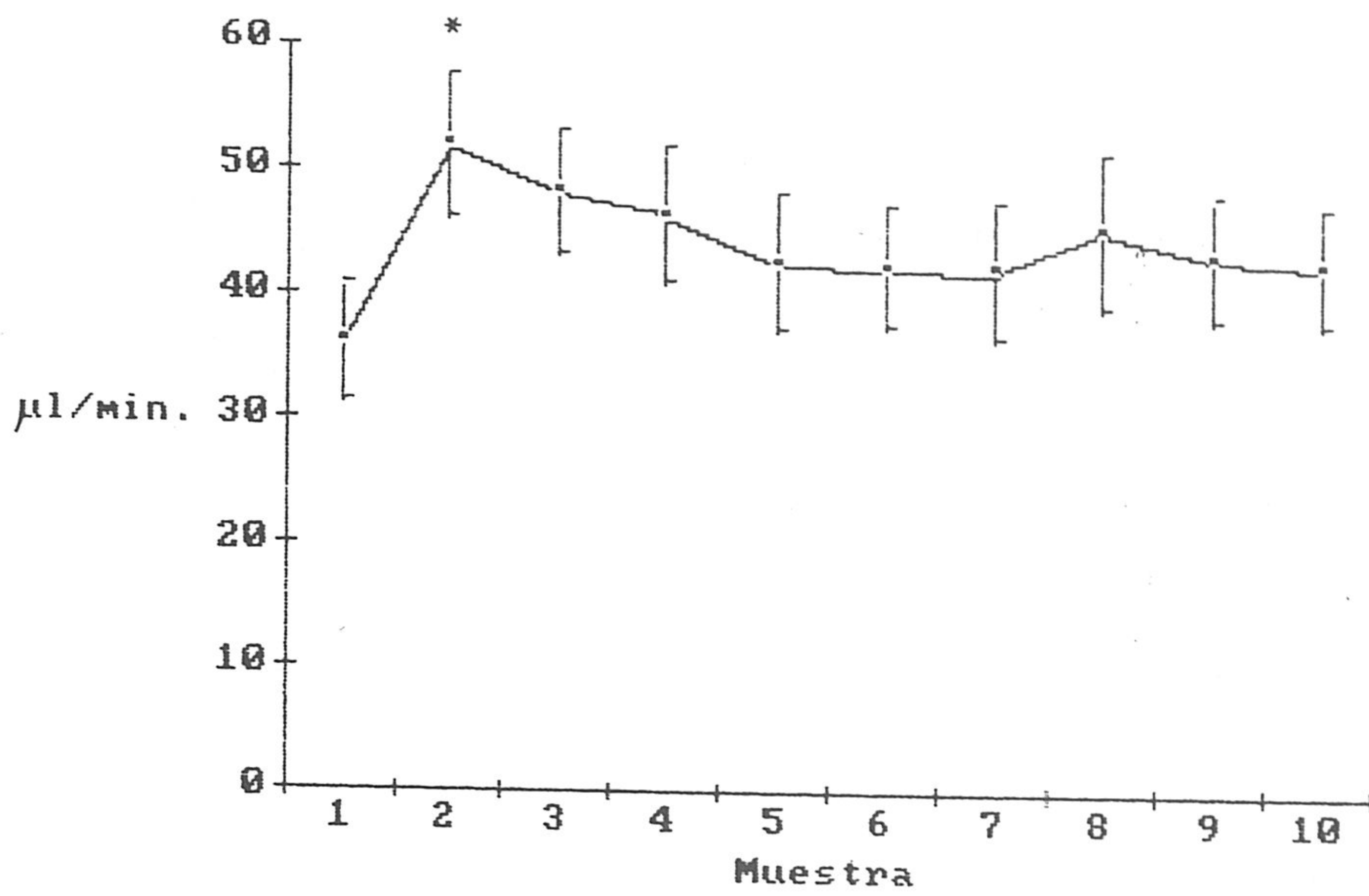
Muestra nº	Flujo µl/min.	Proteína total mg/ml	- Quimiotripsina -		
			U.A.Q	UAQ/min.	UAQ/mg
1	34,6 ± 3,53	11,5 ± 0,66	9,2 ± 0,61	3,3 ± 0,51	8,4 ± 0,74
2	49,2 ± 4,88	12,8 ± 0,78	13,9 ± 0,83	6,9 ± 0,94	11,8 ± 1,30
3	45,6 ± 4,17	11,8 ± 0,56	12,8 ± 1,00	6,4 ± 1,12	11,2 ± 0,88
4	44,6 ± 4,34	12,8 ± 0,91	12,0 ± 1,09	5,8 ± 1,11	10,0 ± 1,03
5	41,2 ± 4,42	13,5 ± 1,10	11,9 ± 1,02	5,5 ± 1,12	9,5 ± 1,01
6	40,7 ± 3,87	14,0 ± 0,97	13,2 ± 1,23	5,7 ± 1,10	10,1 ± 1,02
7	40,6 ± 4,45	12,7 ± 1,00	11,9 ± 0,88	5,1 ± 0,83	10,0 ± 1,06
8	43,6 ± 5,10	14,0 ± 1,07	13,1 ± 1,02	6,2 ± 1,23	10,1 ± 0,90
9	41,2 ± 3,97	13,4 ± 0,98	11,7 ± 0,75	5,0 ± 0,65	9,3 ± 0,73
10	40,6 ± 3,76	13,6 ± 1,13	11,6 ± 0,61	4,5 ± 0,47	9,9 ± 1,14

Se representan valores medios (n=20) ± E.E.M.

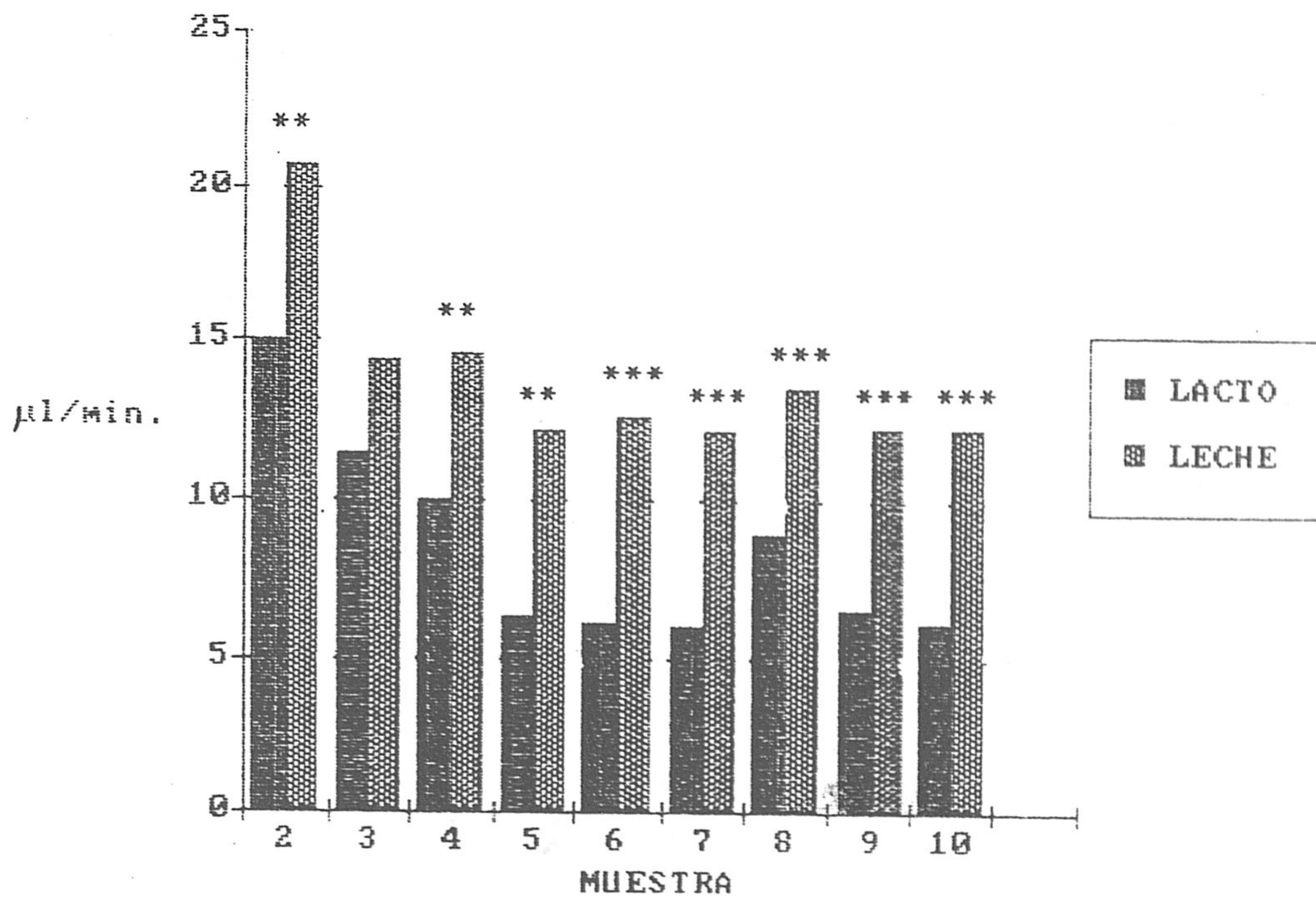


Figura 25

A: Valores medios del flujo de jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con el sustituto lácteo.



B: Variaciones con el tipo de alimento en los incrementos postprandiales del flujo de jugo pancreático.



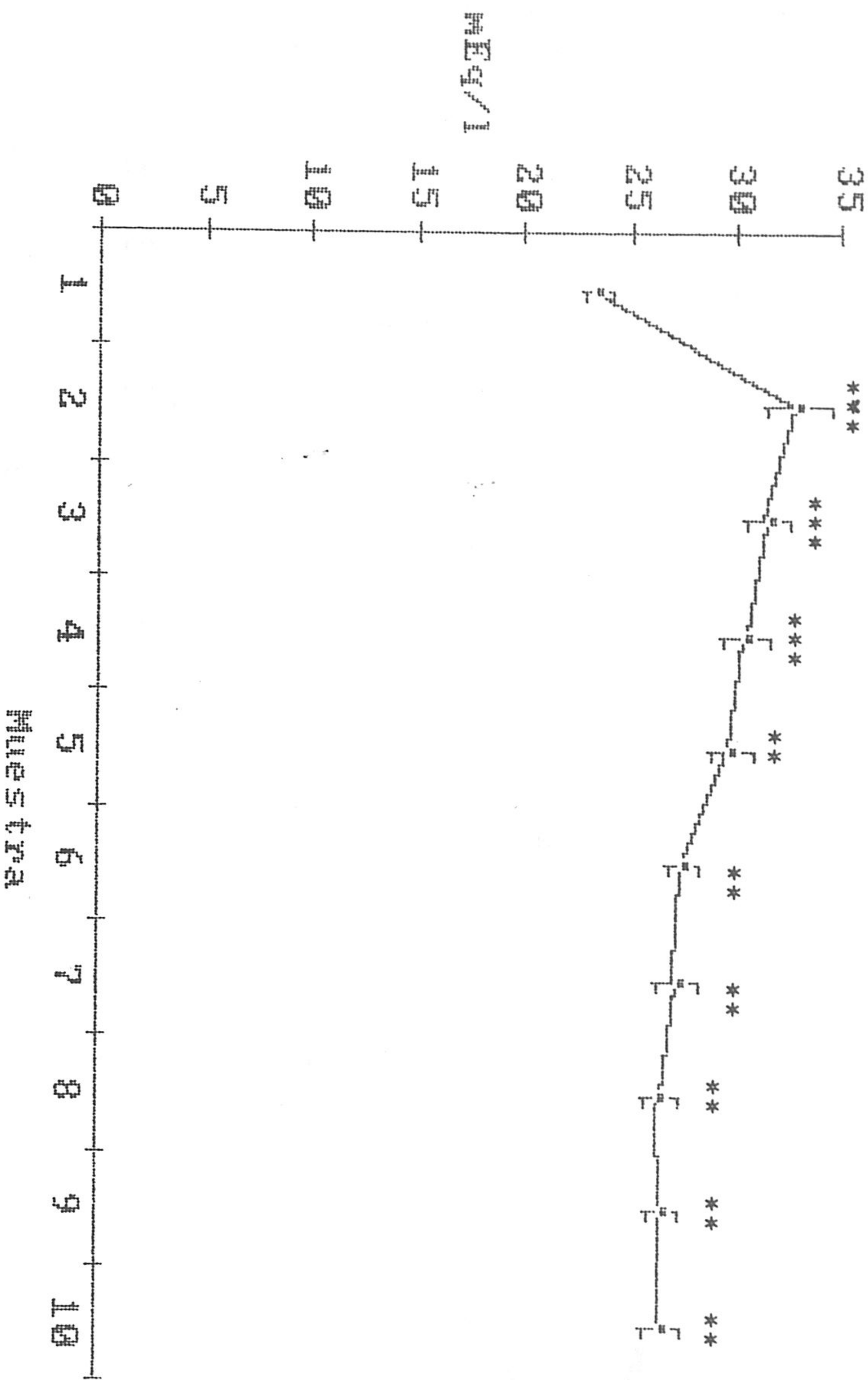
\*\*\*  $p < 0.001$

\*\*  $p < 0.01$

\*  $p < 0.05$



Fig. 26.- Valores medios de bicarbonato en el jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con el sustituto lácteo.



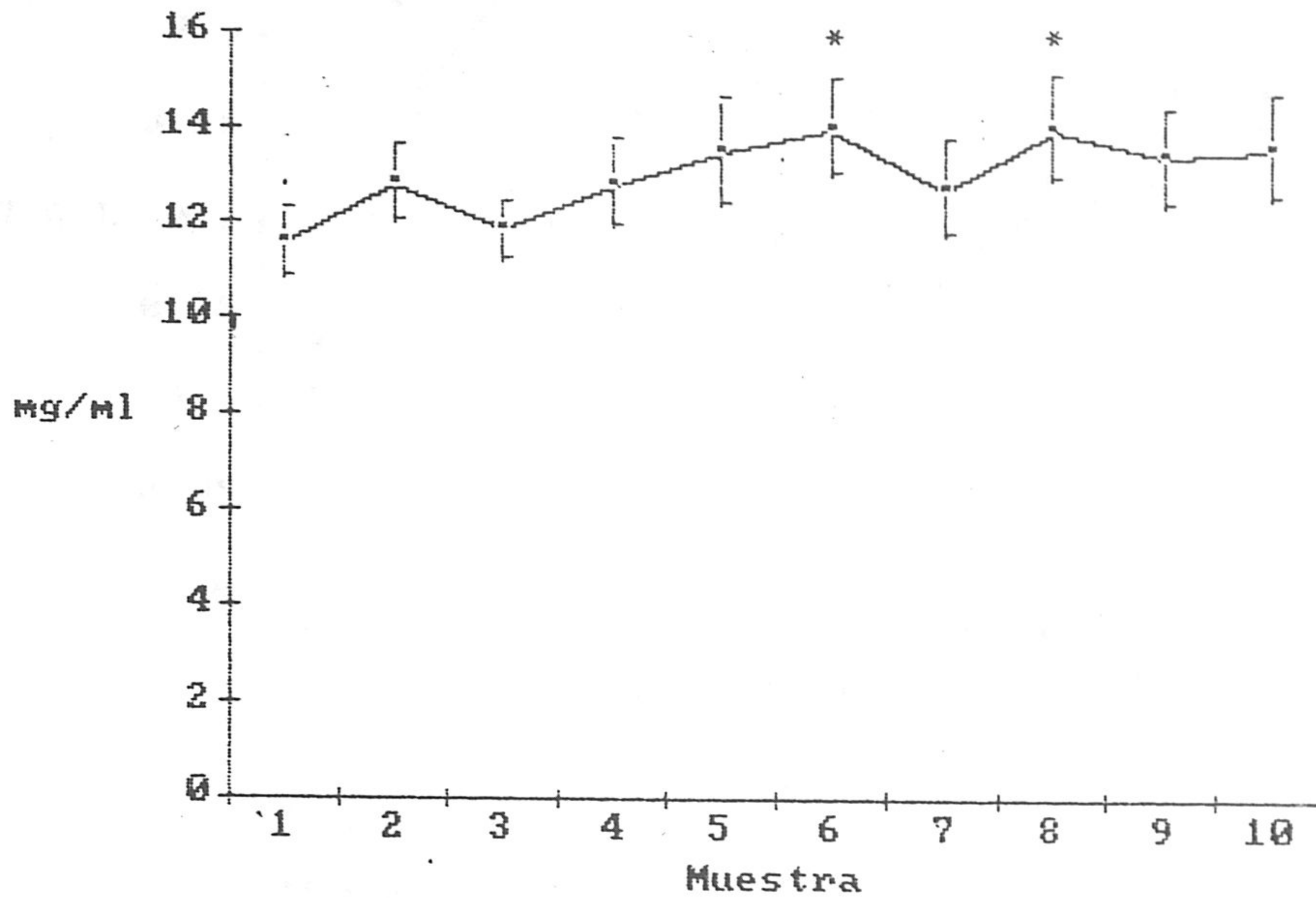
\*\*\*  $p < 0.001$

\*\*  $p < 0.01$



Figura 27

A: Valores medios de la concentración de proteínas en el jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con el sustituto lácteo.



\*  $p < 0.05$

B: Variaciones con el tipo de alimento en los incrementos postprandiales de la concentración de proteínas.

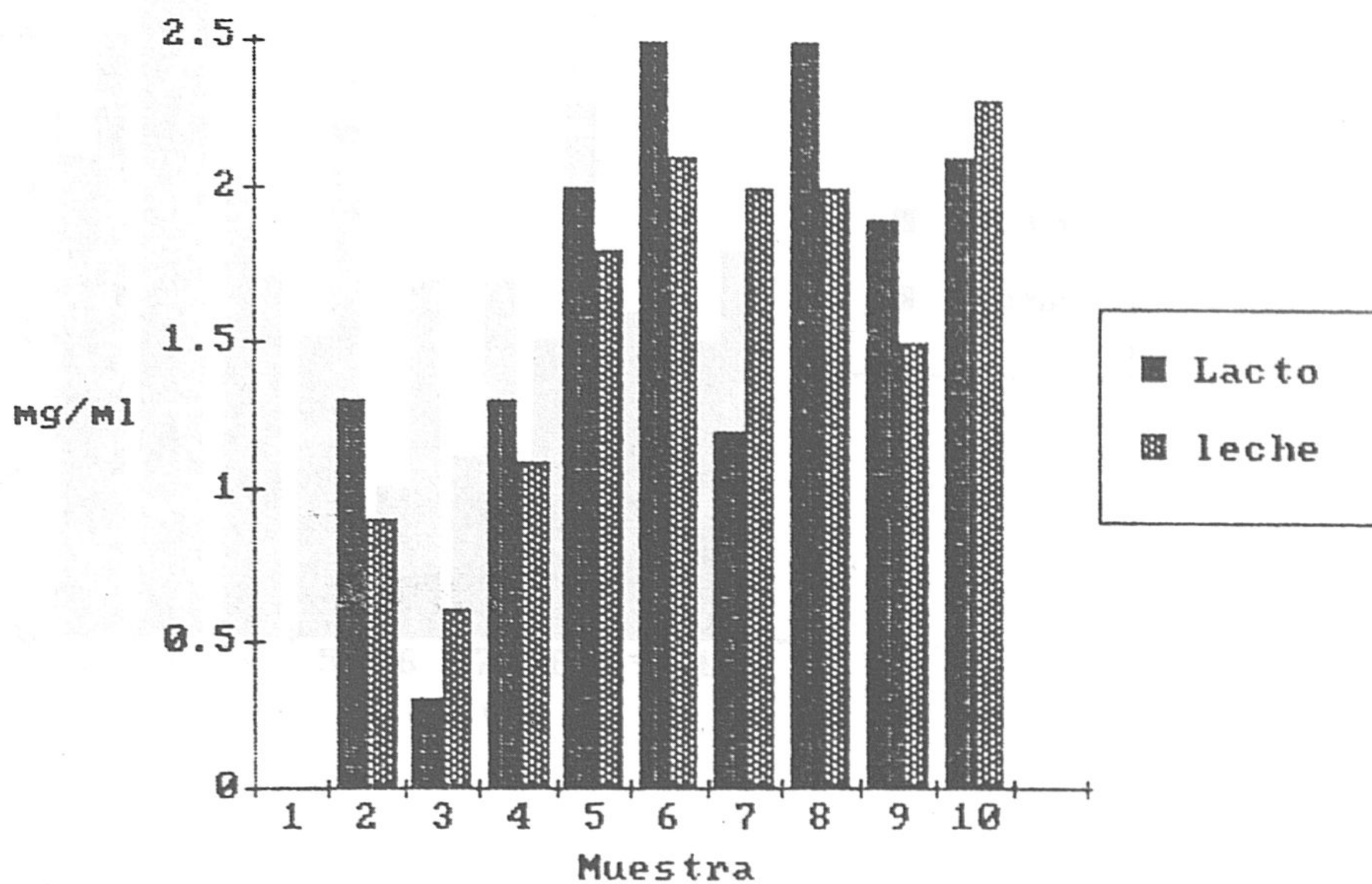
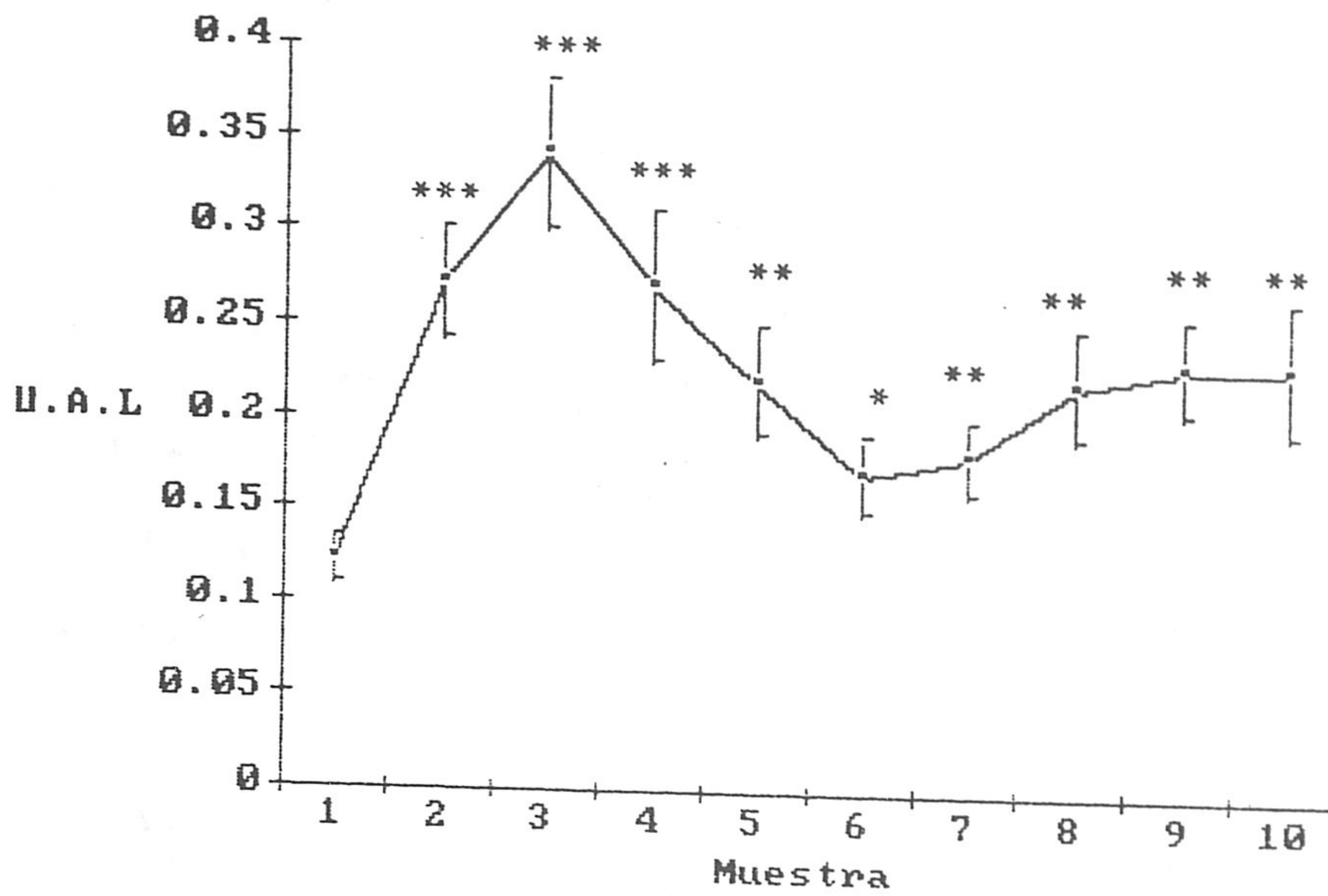




Figura 28

A: Valores medios de la actividad lipásica del jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con el sustituto lácteo.

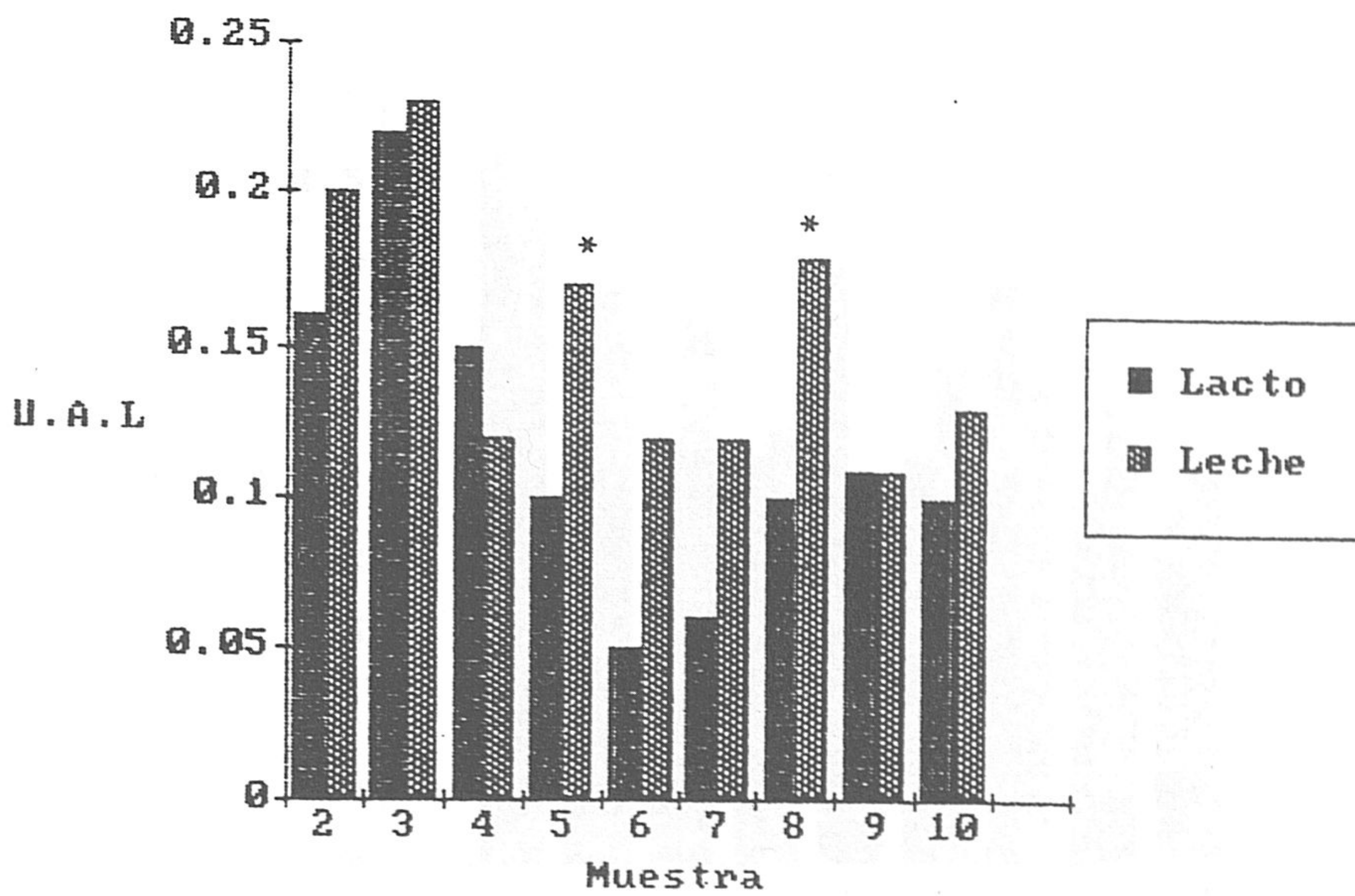


\*\*\*  $p < 0.001$

\*\*  $p < 0.01$

\*  $p < 0.05$

B: Variaciones con el tipo de alimento en la actividad lipásica del jugo pancreático.

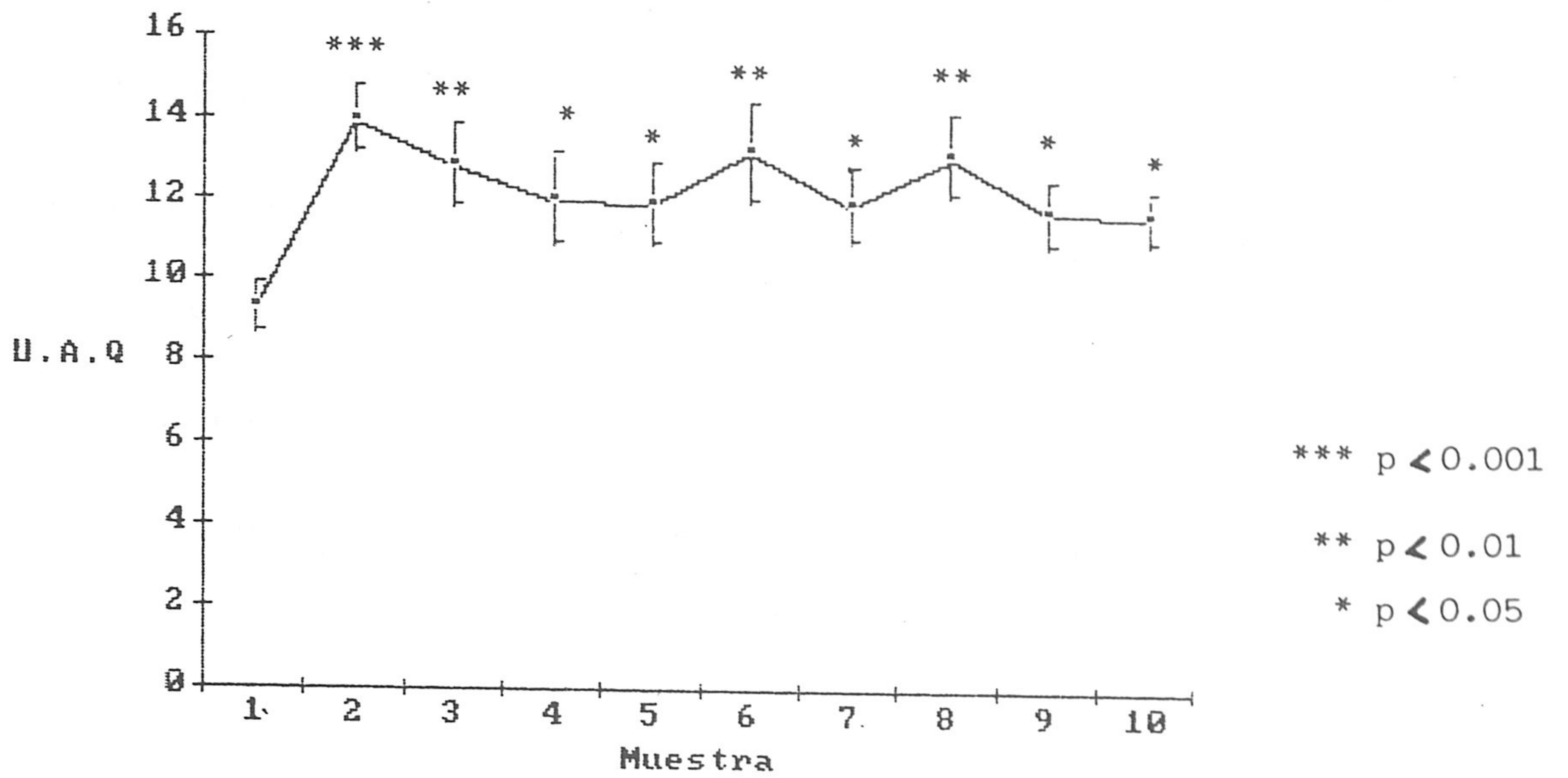


\*  $p < 0.05$



Figura 29

A: Valores medios de actividad quimiotrípica en el jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con el sustituto lácteo.



B: Variaciones con el tipo de alimento en los incrementos postprandiales de la actividad quimiotrípica del jugo pancreático.

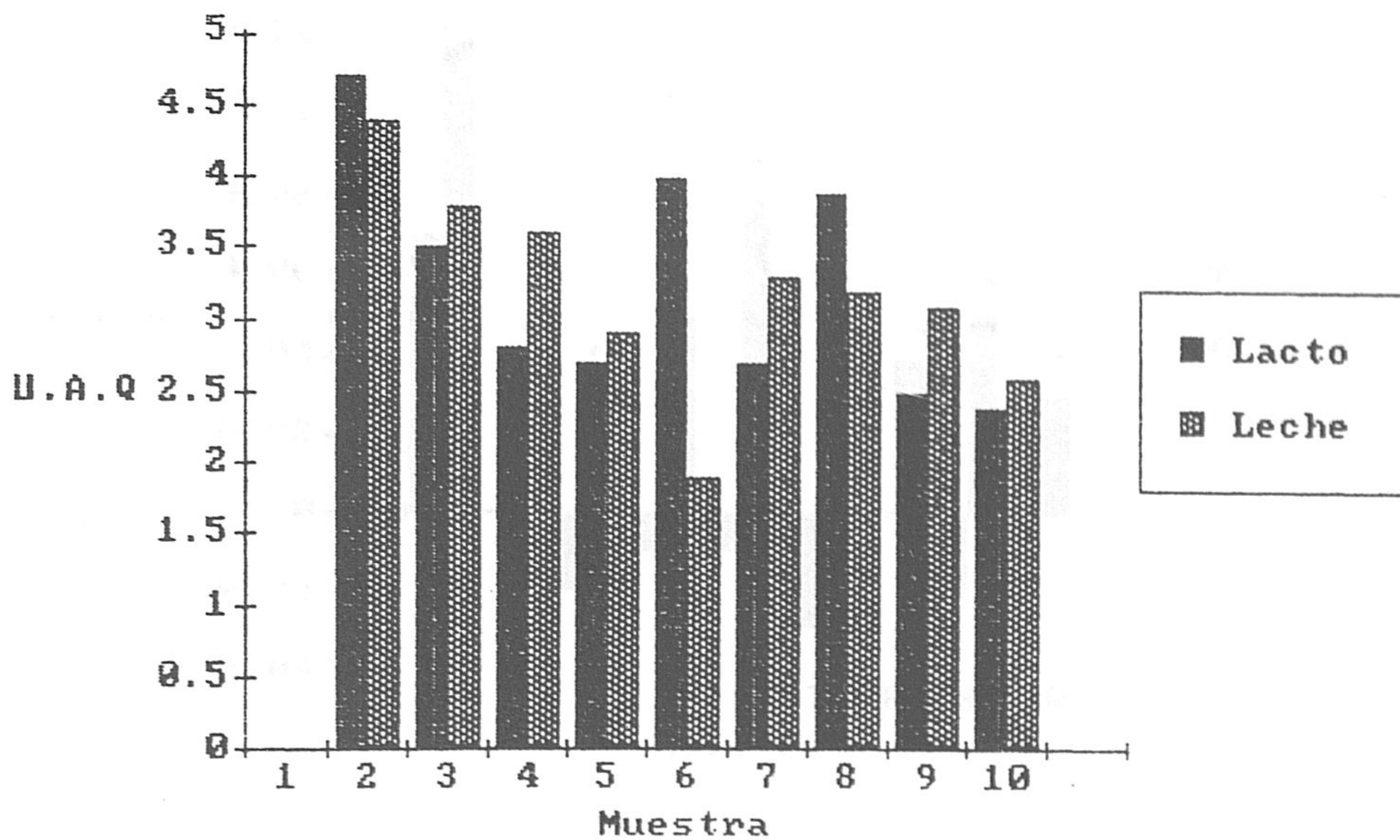
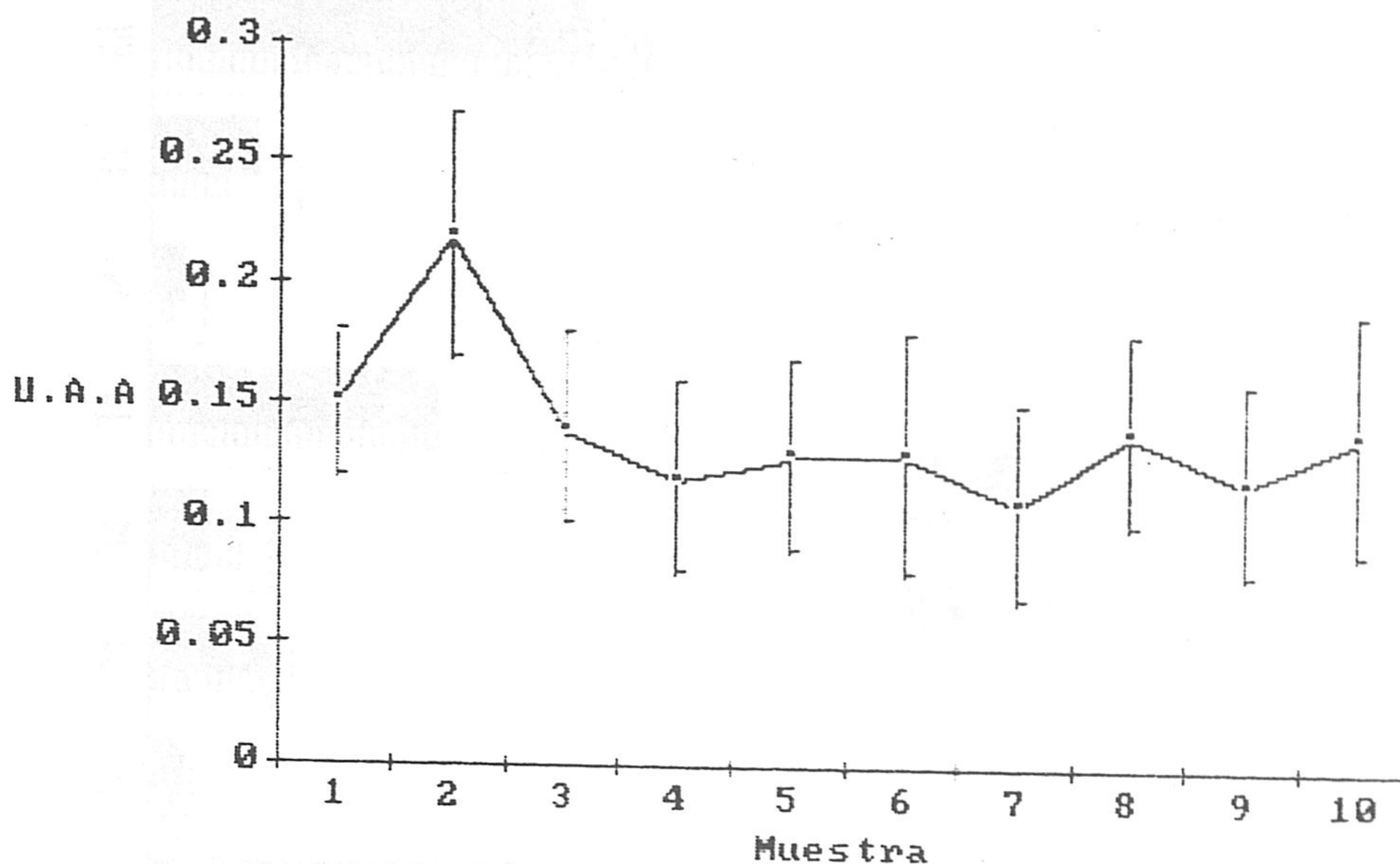


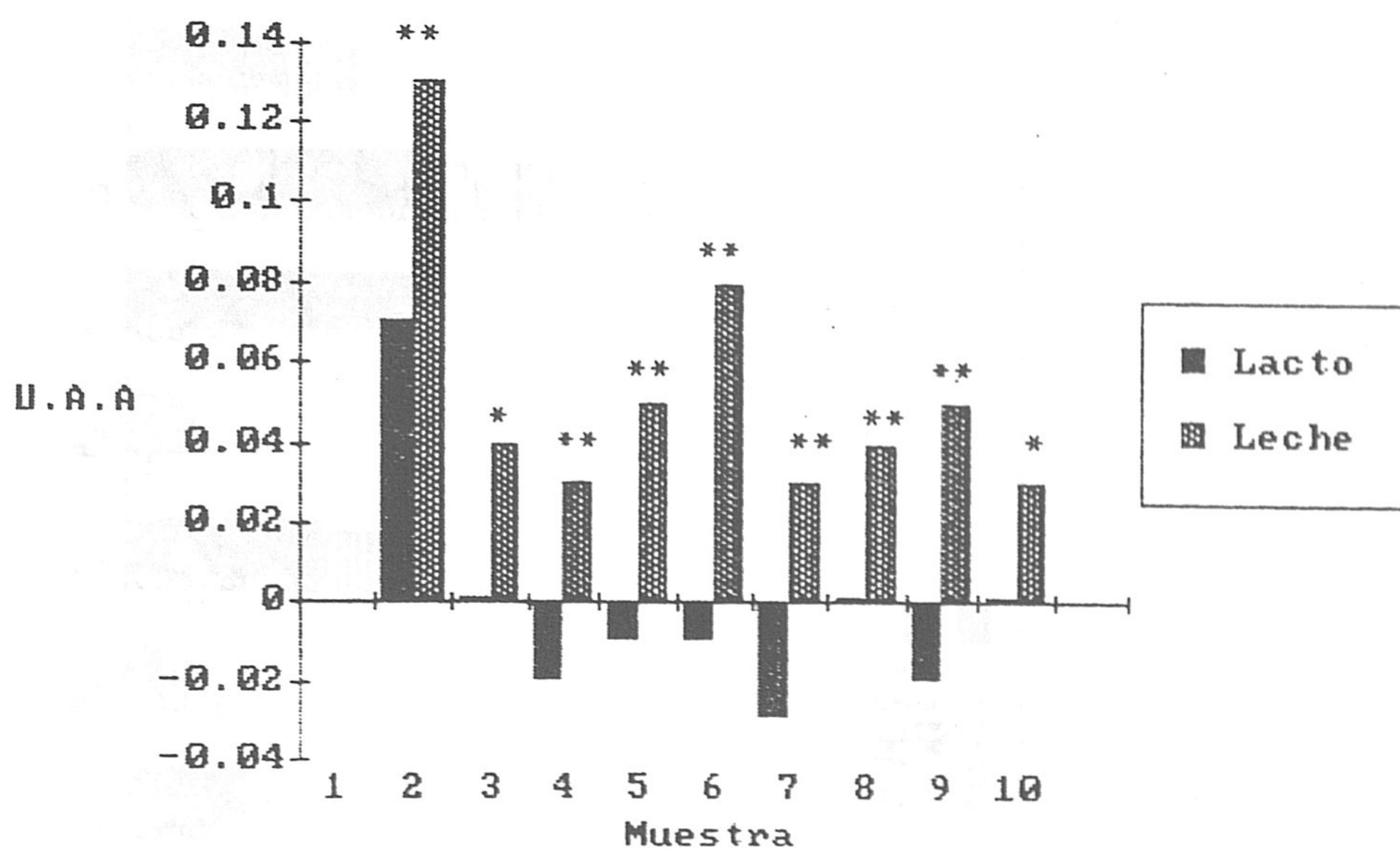


Figura 30

A: Valores medios de la actividad amilásica del jugo pancreático segregado en respuesta a la alimentación con el sustituto lácteo.



B: Variaciones con el tipo de alimento en los incrementos postprandiales de la actividad amilásica del jugo pancreático.



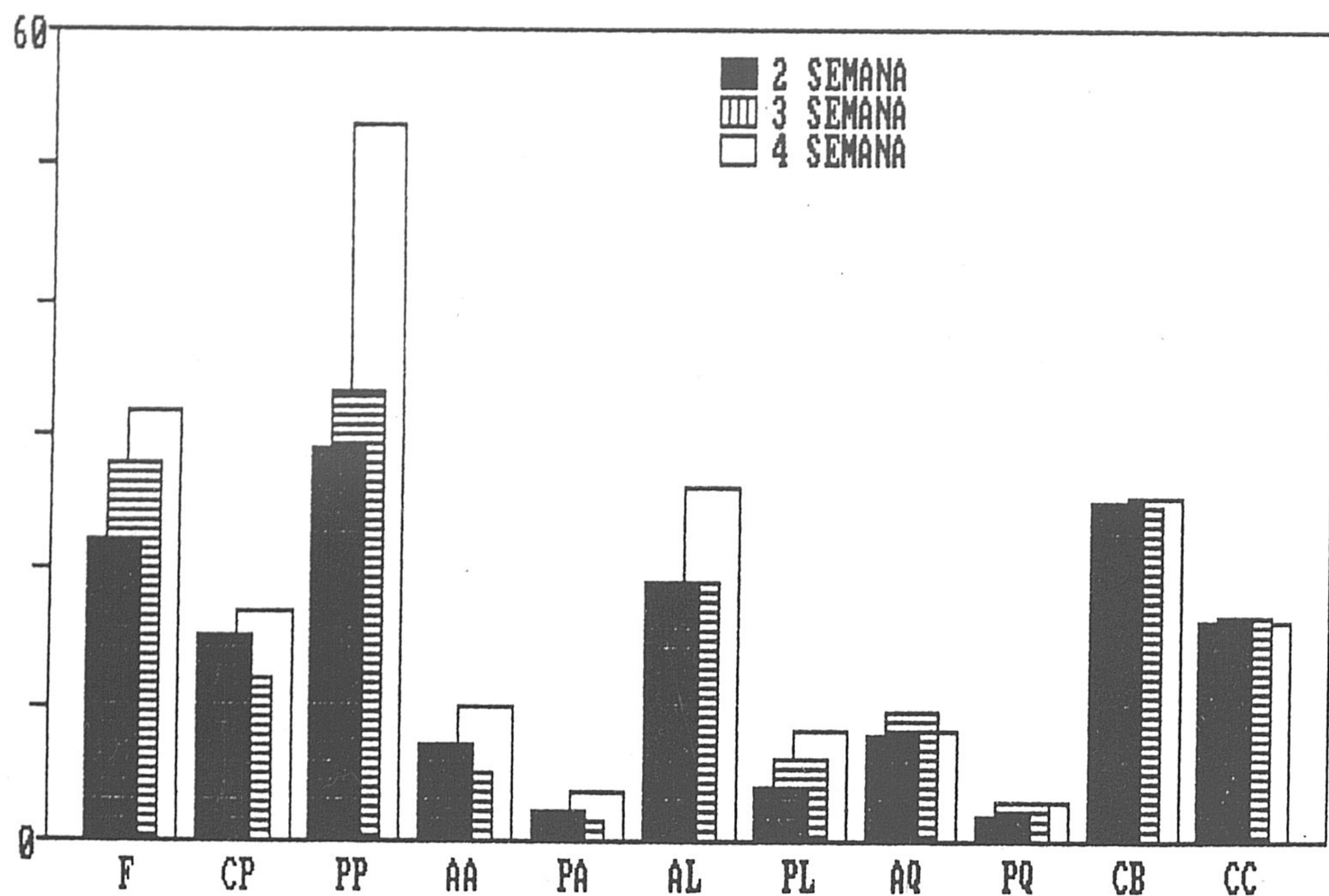
\*\*  $p < 0.01$

\*  $p < 0.05$

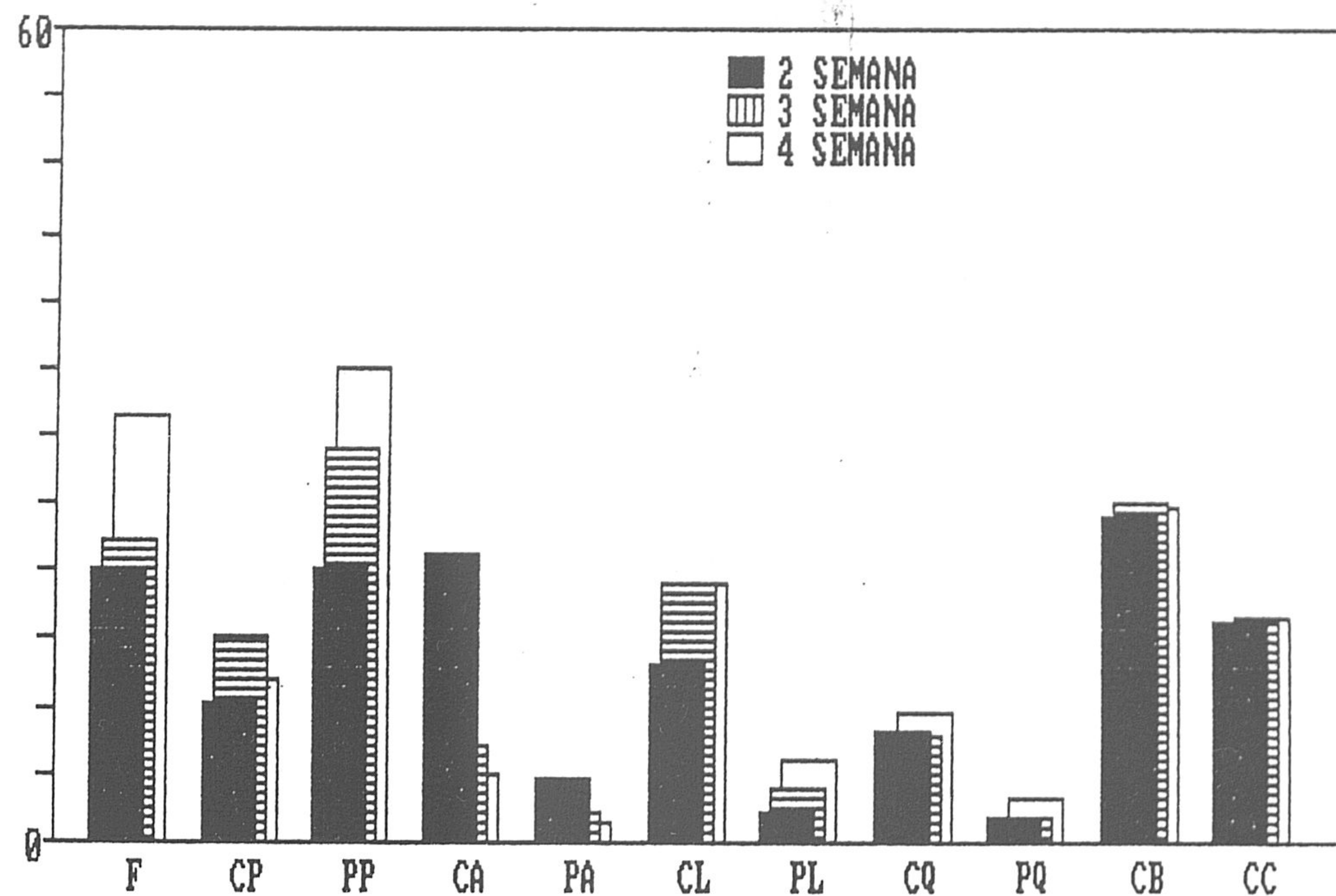


Fig. 31.- Evolución con la edad de los distintos parámetros estudiados en el jugo pancreático segregado en condiciones basales.

A: Animales alimentados con leche



B: Animales alimentados con el sustituto lácteo



F: Flujo  
 CP: Concentración de proteínas  
 PP: Producción de proteínas  
 AA: Actividad amilásica  
 PA: Secreción de amilasa

AL: Actividad lipásica  
 PL: Secreción de lipasa  
 AQ: Actividad quimiotrípica  
 PQ: Secreción de quimiotripsina

CB: Conc. bicarbonato  
 CC: Conc. Cloruros



-----DISCUSION DE-----  
LOS RESULTADOS



## 5.- Discusión de los resultados

### 5.1.- Preparación quirúrgica

Al plantearnos la realización de esta Memoria de Tesis Doctoral, el primer problema que surgió fué diseñar el modelo experimental apropiado para el estudio de la secreción pancreática exocrina en esta especie. La revisión de la bibliografía existente nos aportó algunos datos acerca de estudios similares realizados en el ternero (Ternouth y Siddons, 1971; Ternouth y Buttle, 1973; Davicco y col., 1979; Toothill, 1982). Estos datos fueron de poca utilidad dadas las diferencias anatómicas del arbol pancreato-biliar entre ambas especies, ya que en el ternero ambos conductos, biliar y pancreático, desembocan independientemente en el duodeno; sin embargo, en la cabra, al igual que en el cordero, el conducto pancreático desemboca en el biliar común, vertiendose mezcladas ambas secreciones al intestino delgado proximal.

Por otra parte, los modelos experimentales utilizados en el cordero, si bien hubieran sido válidos en cuanto a la existencia en esta especie de una disposición anatómica semejante, no respetan el funcionamiento del arbol pancreato-biliar en el sentido de alterar la función propia de la vesícula biliar; además, la derivación de bilis directamente a duodeno anula las funciones reguladoras propias de la zona proxima al esfinter de Oddi (Magge, 1961; Pierzynowski, 1978). Más aun, las preparaciones quirúrgicas similares a las de Thomas, que implican una discontinuidad del intestino proximal, pueden modificar la actividad de posibles reflejos enteropancreáticos (Hill y Taylor, 1957; Taylor, 1960; Phaneuf, 1961).



## 5.2.- Sobre la secreción pancreática en cabritos lactantes. Influencia de la edad.

Antes de pasar a describir y discutir los resultados experimentales obtenidos sobre la secreción pancreática exocrina en esta especie, creemos conveniente definir nuestras condiciones experimentales así como la forma de expresión de los resultados.

Aunque algunos autores, en trabajos llevados a cabo en jóvenes rumiantes, expresan los valores de flujo de jugo pancreático en relación al peso corporal (Davicco y col., 1974; Garanina, 1984) nosotros hemos optado por considerar dicho parámetro en función de la edad de los animales; y ello por varias razones:

- En primer lugar, la manipulación quirúrgica del animal, aunque mínima, siempre implicaba distintos periodos de ayuno, tanto antes como después de la intervención. Esto, junto al inevitable estrés quirúrgico, puede modificar, de forma apreciable, el peso normal del animal. Si además tenemos en cuenta los cortos periodos experimentales (1 semana como máximo), las modificaciones en el peso corporal, en relación con la edad, difieren de la evolución normal de este parámetro en animales no operados.

- Por otro lado, como ya se ha mencionado en el capítulo correspondiente a Método (apartado 3.2.1), los animales utilizados, lo eran independientemente del tipo de parto, y como es sabido según el parto sea simple o múltiple el peso corporal del animal se modifica, y por tanto, para una misma edad cronológica el peso corporal puede ser sensiblemente diferente.

- Por último, y según distintos autores, el desarrollo y maduración del tracto gastrointestinal en general, y del páncreas exocrino en particular, no corre paralelo con el aumento en el peso corporal ó en el peso de la glándula (Aliev y Garanina, 1984).



Por todo lo anterior, hemos optado por considerar al flujo de jugo pancreático en función de la edad, ya que, aunque existe una correlación lineal positiva estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) entre flujo y peso del animal, esta correlación solo se obtiene cuando se utilizan valores ponderales calculados teóricamente de una curva de evolución ponderal en animales intactos (Muñoz Hernandez, 1985).

#### 5.2.1.- Secreción de reposo

En cabritos no anestesiados y alimentados con leche de cabra, en ausencia de estímulos conocidos, los flujos de jugo pancreático durante la segunda, tercera y cuarta semana de vida alcanzaron valores medios de  $22.2 \pm 4.10$ ,  $27.8 \pm 3.25$  y  $31.7 \pm 2.66$   $\mu\text{l}/\text{minuto}$  respectivamente. Como puede apreciarse, el flujo de jugo pancreático se incrementa con la edad de los animales, existiendo una correlación lineal positiva, estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) entre ambos parámetros (Fig. 7). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Ternouth y Siddons (1971), Ternouth y col. (1976), Busakov y Kuryska (1985) en terneros, y por Guilloteau y col. (1983) en corderos, y podrían deberse a los cambios que ocurren con la edad en los niveles circulantes de hormonas gastrointestinales. De hecho, se ha descrito en terneros un incremento de secretina (Guilloteau y col., 1984) y de CCK plasmáticas (Guilloteau y col., 1986a), que se produce cuando los terneros alcanzan 20 días de edad.

Las concentraciones de bicarbonato y cloruro en el jugo pancreático segregado no experimentan cambios a las distintas edades estudiadas por nosotros (Tabla I).

En cuanto a los componentes orgánicos del jugo pancreático segregado por los cabritos de dos, tres y cuatro semanas, el contenido en proteína fue de  $15.0 \pm 1.89$ ,  $12.0 \pm 1.41$  y  $17.0 \pm 0.94$   $\text{mg}/\text{ml}$  respectivamente, siendo significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) los



valores correspondientes a los animales de cuatro semanas de edad. Las actividades enzimáticas siguen, con la edad, una evolución diferente según la enzima considerada. Así, la actividad quimiotripsina no sufre cambios apreciables con la edad (Tabla I), mientras que las actividades lipásica y amilásica experimentan una elevación significativa ( $p < 0.05$ ) en la cuarta semana de vida del animal. Si se expresan como actividad específica, las tres enzimas están relacionadas inversamente con la concentración de proteínas; sin embargo, durante la cuarta semana de vida, las actividades específicas de lipasa y amilasa aumentan paralelamente con los incrementos observados en su actividad global, mientras que la quimiotripsina sigue el mismo comportamiento que en las semanas anteriores.

Se han descrito diferencias entre monogástricos y jóvenes rumiantes en cuanto a los niveles de enzimas proteolíticos en el momento del nacimiento; dichos niveles son bajos en monogástricos (Robberecht y col., 1971; Lebas y col., 1971; Corring y col., 1978) y elevados en los prerrumiantes (Sauvant, 1971; Ternouth y Siddons, 1971), no modificándose en estos últimos, de forma apreciable, durante la lactancia. Por tanto, en este sentido, el cabrito se comporta de forma semejante a otras especies de rumiantes durante la etapa de lactancia. Las diferencias observadas con respecto a los animales monogástricos, podrían atribuirse, en parte, a la existencia en éstos de una proteólisis intracelular en los primeros días postnatales (Hahn y Koldovsky, 1966), proceso que no ha sido descrito en jóvenes rumiantes. Además, en el ternero, los niveles de pepsina son bajos en las primeras semanas después del nacimiento, no alcanzando niveles elevados hasta la octava semana de vida, por lo que dichos niveles de quimiotripsina podrían compensar, en cierto grado, los bajos niveles de la enzima gástrica durante este periodo (Sauvant, 1971; Henschel, 1973; Ternouth y col., 1975; Garnot y col., 1977).



En todas las especies estudiadas (monogástricos y rumiantes), los niveles de enzimas amilolíticas en la secreción pancreática son muy bajos durante toda la etapa de lactancia, probablemente debido a la ausencia de almidones en la dieta habitual (leche); no obstante, se observa un ligero incremento durante las últimas etapas de la misma, lo que constituiría un proceso de maduración ante el inminente cambio en el tipo de alimento (Morrill y col., 1970; Ternouth y Siddons, 1971; Leat, 1971; Snook, 1971; Ulbrish y col., 1981; Guilloteau y col., 1983; Owsley y col., 1986). En nuestro caso, los cabritos mantienen niveles muy bajos de la enzima hasta la semana previa a la etapa de transición en la que se produce un cambio drástico en el tipo de dieta.

La actividad lipolítica es sensiblemente inferior a la actividad proteolítica en todas las especies estudiadas tanto en monogástricos (Corring y Aumaitre, 1970; Lebas y col., 1971; Corring y col., 1978) como en rumiantes (Roy y Stobo, 1975; Ulbrish y col., 1981). Esto es lógico si pensamos en la importancia de la lipasa salival (Ramsey y Young, 1961; Ternouth y col., 1974b; Watkins, 1975; Edwards-Webb y Thompson, 1978; Widdowson, 1984), durante este periodo; sin embargo, de acuerdo con Sauvart (1971), en terneros, la lipasa salival disminuye rápidamente hasta niveles mínimos en la cuarta semana de vida. Este hecho, podría explicar el aumento de la actividad lipásica encontrado por nosotros en el jugo pancreático segregado por cabritos desde la segunda a la cuarta semana postnatal, y a su vez, estaría de acuerdo con la hipótesis apuntada por Huber y col. (1961b) y Gooden y Lascelles (1973) en el sentido que la lipasa salival se hace poco a poco subsidiaria de la lipasa pancreática conforme el animal se desarrolla. No obstante, a pesar de esta elevación, los niveles de la enzima son bajos si los comparamos con los descritos en animales adultos.



## 5.2.2.- Respuesta a la comida

### a) Flujo y electrolitos

En cabritos lactantes, y en lo que se refiere a flujo, la respuesta a la comida es cualitativamente semejante a las tres edades ensayadas por nosotros; desde un punto de vista global, el mayor incremento de flujo se produce en la primera media hora postprandial ( $p < 0.001$ ), manteniéndose elevado el volumen de jugo pancreático durante las ocho horas de duración de los experimentos (Fig. 8; Tabla II<sub>a</sub>). Sin embargo, si analizamos la respuesta a las distintas edades, y desde un punto de vista cuantitativo, encontramos ciertas diferencias; así, en los animales con dos semanas de vida el incremento postprandial de flujo no es estadísticamente significativo; por el contrario, en los cabritos de tres semanas de edad, el flujo de jugo pancreático aumenta de una forma muy marcada, alcanzándose la máxima significación estadística ( $p < 0.001$ ) en las dos primeras horas postprandiales. La respuesta observada en los ensayos realizados con animales de cuatro semanas es semejante a la que presentan los cabritos de tres semanas de vida durante las dos primeras horas después de la comida, mientras que a partir de la tercera hora postprandial se produce un descenso en los valores de flujo que se acercan progresivamente hacia los valores basales (Fig. 9; Tablas III<sub>a</sub>, IV<sub>a</sub> y V<sub>a</sub>).

Independientemente de la edad de los animales, la concentración bicarbonato en el jugo pancreático segregado en respuesta a la comida, sigue un patrón similar al flujo, aunque la caída de dichos valores después de la segunda hora postprandial es más acusada que en el caso del flujo; no obstante, las concentraciones de bicarbonato se mantienen significativamente elevadas ( $p < 0.001$ ) durante las ocho horas de experimentación (Fig. 10). Un análisis más detallado, en función de la edad de los animales, muestra que los incrementos que experimenta la concentración de bicarbonato son



menores en los animales de cuatro semanas de vida (Tablas III<sub>(ca)</sub>, IV<sub>(ca)</sub> y V<sub>(ca)</sub>). Como era de esperar, el comportamiento que sufren los cloruros es inverso al descrito para el bicarbonato (Fig. 10; Tablas III<sub>(ca)</sub>, IV<sub>(ca)</sub> y V<sub>(ca)</sub>).

Este patrón secretor, en flujo y electrolitos, de respuesta a la comida indica la existencia en el cabrito de un vaciamiento abomasal continuo así como el mantenimiento de un pH ácido en el duodeno proximal. De hecho, experimentos llevados a cabo por Toullec y col. (1971) y Smith y Sissons (1975) en terneros, y por Hernandez Clua y col. (1988a) en la especie estudiada por nosotros, muestran un vaciamiento del alimento (leche) continuo, que se mantiene al menos durante las ocho horas de duración de los ensayos; dicho vaciamiento es máximo durante las tres primeras horas postprandiales. Por otra parte, y según los mismos autores, durante las ocho horas experimentales los valores de pH de la digesta abomasal vaciada permanecen por debajo de 4.5, y como puede observarse en la figura 11, la infusión de una solución de ClH 0.1 N y pH inferior a 5.0 provoca en cabritos anestesiados un incremento en el flujo de jugo pancreático.

Lo expuesto anteriormente implicaría (dado el umbral de pH para la secretina) una liberación de secretina endógena que se mantendría durante todo el periodo postprandial estudiado por nosotros; además, el contenido en cloruro y bicarbonato del jugo pancreático segregado apoyan la existencia de un efecto secretínico. En efecto, la administración endovenosa de secretina a cabritos anestesiados provoca un incremento en el flujo de jugo pancreático, que además posee unas características similares, en cuanto al contenido en electrolitos, al que se produce en animales conscientes en respuesta a la comida. No obstante, no debemos desechar la posible intervención de la CCK en la respuesta observada, ya que de acuerdo con Davicco y col. (1979) y Guilloteau y col. (1986b), en terneros, tras la ingesta de leche, se producen elevaciones en los niveles plasmáticos de dicha hormona, al menos durante las cuatro



primeras horas postprandiales; de hecho, Hernandez Clua y col. (1988b) encuentran en cabritos que el vaciamiento abomasal de grasa y proteínas lácteas es máximo en estas primeras horas postprandiales. Además, la administración endovenosa de CCK provoca, en cabritos anestesiados un incremento del flujo de jugo pancreático (Fig. 12). En este sentido, el mantenimiento de la concentración de proteínas en el jugo segregado durante todo el periodo postprandial, y por consiguiente el incremento en su secreción, apoyan la participación de esta hormona gastrointestinal en la respuesta en flujo observada.

Por último, y aunque en los ensayos realizados por nosotros en animal anestesiado la estimulación vagal en el cuello no modificó la secreción pancreática exocrina, no podemos descartar la existencia, en el animal consciente, de reflejos cortos enteropancreáticos que pudieran contribuir en la respuesta observada. Asimismo, la gastrina que, de acuerdo con Bloom y col. (1978) y Guilloteau y col. (1985), experimenta en terneros un incremento plasmático tras la comida, podría colaborar en los cambios en flujo y electrolitos observados por nosotros en la secreción pancreática exocrina de cabritos.

En cuanto a las diferencias observadas en la respuesta secretora del páncreas exocrino a las distintas edades ensayadas, dichas diferencias son semejantes a las encontradas por Ternouth y Buttle (1973) en terneros, durante etapas de lactancia similares a las estudiadas por nosotros. En general, pensamos que la escasa respuesta obtenida en animales con dos semanas de vida se podría deber, por una parte, a una falta de maduración de los mecanismos secretores de la glándula y, por otra parte, a una respuesta disminuida a los estímulos secretores inducidos por la ingesta del alimento. De acuerdo con esta explicación, los trabajos realizados por Auricchio y col. (1965) en niños, y por Thivend y col. (1980) en prerrumiantes, indican que en los primeros días de vida las funciones digestivas en general, no han alcanzado un completo desarrollo. Por otra parte, los niveles plasmáticos de hormonas



gastrointestinales tales como secretina, CCK y VIP, se elevan progresivamente en terneros durante las primeras semanas de vida (Guilloteau y col., 1984, 1986).

La mayor respuesta observada en los cabritos de tres semanas de edad, puede atribuirse, aparte de a la maduración de los mecanismos secretores de la glándula, al posible incremento de los niveles circulantes de secretina y CCK, tal como ha sido descrito en terneros en etapas de lactancia similares (Guilloteau y col., 1984, 1986); además, no podemos descartar una mayor sensibilidad de los diferentes elementos glandulares a los estímulos hormonales. Partiendo del supuesto de que en los cabritos de cuarta semana de vida los mecanismos de secreción, estímulos hormonales, así como la sensibilidad a los diferentes estímulos secretores, fueran similares a los existentes en cabritos de tres semanas de edad, pensamos que las diferencias observadas en la respuesta secretora respecto a los animales de tercera semana, podrían atribuirse a modificaciones en el patrón de vaciamiento abomasal como consecuencia del desarrollo progresivo de los preestómagos, y por tanto, de la importancia relativa que va adquiriendo las distintas cavidades.

#### **b) Componentes orgánicos**

Cuando se analiza la respuesta a la comida, independientemente de la edad de los animales, la concentración de proteínas en el jugo pancreático segregado no experimenta ninguna variación a lo largo de las ocho horas experimentales (Fig. 13, Tabla II<sub>(c)</sub>); sin embargo, entre las distintas edades ensayadas se producen diferencias muy marcadas (Fig. 14). Si observamos los cambios que sufre la secreción de proteínas a lo largo de las ocho horas postprandiales (Fig. 15, Tabla III<sub>b</sub>, IV<sub>b</sub> y V<sub>b</sub>), puede apreciarse que en los animales de dos semanas de vida el mayor incremento en la secreción de proteínas se



produce entre la cuarta y sexta hora postprandial, mientras que en los cabritos de tres y cuatro semanas dicho incremento se circunscribe a las dos primeras horas tras la comida.

En cuanto a la actividad enzimática, y siempre considerando valores globales, el patrón de respuesta a la comida es similar para las tres enzimas analizadas, amilasa, lipasa y quimiotripsina: un marcado incremento ( $p < 0.001$ ) en la primera media hora postprandial, permaneciendo dichos valores aumentados significativamente, respecto a los basales correspondientes, a lo largo de las ocho horas experimentales (Fig. 16, 17 y 18; Tablas II<sub>b</sub>, II<sub>c</sub> y II<sub>d</sub>).

La evolución temporal de las distintas actividades enzimáticas en respuesta a la comida es, en general, cuali y cuantitativamente diferente según la edad de los animales. Así, en los cabritos de dos semanas, los incrementos en la actividad lipásica son máximos en la primera, tercera y sexta hora postprandial, mientras que en los de cuatro semanas los incrementos en la actividad de dicha enzima solo son marcados en la primera hora después de la comida; los animales de tres semanas presentan un comportamiento intermedio entre el que se observa en los cabritos de dos y cuatro semanas de edad. Tanto desde un punto de vista cualitativo como cuantitativo, el patrón de respuesta al alimento para la actividad amilásica es similar al descrito para la lipasa (Fig. 19 y 20; Tablas III<sub>b,c</sub>, IV<sub>b,c</sub> y V<sub>b,c</sub>). Por el contrario, la quimiotripsina presenta un comportamiento totalmente diferente: en los animales con dos semanas de edad, el incremento de actividad, que es muy marcado, se mantiene a lo largo de las ocho horas de experimentación, algo similar ocurre en los cabritos de cuatro semanas de vida, aunque en estos últimos el incremento en la actividad es inferior. La respuesta que se observa en los animales durante la tercera semana de vida difiere del patrón descrito: el máximo incremento se produce media hora después de la



comida, reduciéndose a continuación la respuesta hasta alcanzar el mínimo incremento de actividad quimiotripsica en la cuarta hora postprandial; dicho incremento se mantiene, con ligeras oscilaciones hasta el final del periodo experimental (Fig. 21; Tablas III<sub>d</sub>, IV<sub>d</sub> y V<sub>d</sub>).

Si observamos los incrementos postprandiales que sufren las secreciones de estas enzimas, de nuevo apreciamos un comportamiento distinto entre quimiotripsina por un lado, y amilasa y lipasa por otro. Así, los incrementos en la producción de quimiotripsina que presentan los cabritos de dos semanas de vida no se modifican a lo largo de todo el periodo experimental, mientras que en los animales de tres y cuatro semanas, el mayor incremento se produce durante la primera media hora tras la ingesta del alimento (cuantitativamente mayor en los animales de tres semanas), disminuyendo progresivamente hasta estabilizarse a partir de la tercera hora postprandial. Este comportamiento se asemeja mucho al descrito para el flujo de jugo pancreático (Fig. 9 y 22; Tablas III<sub>d</sub>, IV<sub>d</sub> y V<sub>d</sub>). Por lo que se refiere a los incrementos que sufre la producción de amilasa y lipasa, el patron de respuesta que se observa es similar al descrito anteriormente para la actividad de ambas enzimas en las tres edades estudiadas por nosotros (Fig. 19,20,23 y 24; Tablas III<sub>b,c</sub>, IV<sub>b,c</sub> y V<sub>b,c</sub>).

Independientemente de la edad de los animales, no debe extrañar el incremento que, tras la ingesta del alimento, sufre la secreción tanto de proteínas como de las diferentes enzimas; estos incrementos se mantienen durante todo el periodo experimental ya que, como hemos mencionado, el vaciamiento abomasal es continuo y se mantiene al menos durante las ocho horas de experimentación, por lo que durante todo el ensayo estan presentes los estímulos secretores que afectan tanto al componente hidroelectrolítico como orgánico (por tanto enzimático) del jugo pancreático segregado.



Según distintos autores (Sauvant, 1971; Ternouth y Siddons, 1971), la actividad quimiotripsica es elevada desde el nacimiento, y no se modifica a lo largo del periodo de lactancia, mientras que las actividades amilásica y lipásica se incrementan en grado variable durante el desarrollo postnatal. Por ello, no debe extrañar el diferente comportamiento de quimiotripsina por un lado, y lipasa y amilasa por otro, en respuesta a la comida, ya que la quimiotripsina no modifica su patrón de respuesta a la comida en ninguna de las tres edades ensayadas, en tanto que lipasa y amilasa muestran, en los cabritos de tercera y cuarta semana, respuestas claramente diferentes a las que se observan en los animales de dos semanas de vida (Fig. 19,20 y 21). En lo que se refiere a producciones enzimáticas, los resultados obtenidos en respuesta a la comida, y a las diferentes edades estudiadas por nosotros, nos llevan a pensar en la existencia de una secreción no paralela (Reynolds y Heath, 1981; Lahaie y col., 1986) de las tres enzimas estudiadas. No estamos en condiciones de explicar este hecho, que bien podría deberse a una falta de maduración de los mecanismos de síntesis y/o de transporte y liberación (Adelson y Miller, 1985; Case, 1986), aunque no debemos olvidar la posibilidad de una diferente sensibilidad a los estímulos secretores inducidos por el alimento.

### 5.3.- Sobre la secreción pancreática en cabritos lactantes. Influencia del tipo de alimento.

#### 5.3.1.- Secreción de reposo

Desde un punto de vista global, la sustitución de la alimentación natural por un lactorreemplazante, produce en los cabritos los siguientes efectos en la secreción pancreática exocrina: un descenso significativo en la concentración de bicarbonato ( $p < 0.01$ ), en la actividad lipásica ( $p < 0.001$ ) así como en su



actividad específica ( $p < 0.01$ ) y en la concentración de proteínas totales ( $p < 0.01$ ); y un aumento marcado en la actividad amilásica ( $p < 0.01$ ). Los demás parámetros estudiados no experimentan cambios significativos (Tablas VI<sub>a</sub>, VI<sub>b</sub>, VI<sub>c</sub> y VI<sub>d</sub>).

### 5.3.2.- Respuesta a la comida

En los animales alimentados con el sustituto lácteo, la respuesta en flujo a la comida es cuali y cuantitativamente diferente a la observada en los cabritos alimentados con leche de cabra, al menos durante las ocho horas de duración de nuestros experimentos. Así, el lactorreemplazante provoca un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) del flujo de jugo pancreático solo durante la primera media hora postprandial, descendiendo posteriormente dichos valores, de forma rápida, para acercarse a los valores basales (Fig. 25; Tabla VI<sub>a</sub>).

La concentración en bicarbonato del jugo pancreático segregado en respuesta al lactorreemplazante, aumenta significativamente ( $p < 0.001$ ) en la primera media hora postprandial, descendiendo en las horas siguientes de forma gradual; no obstante, la concentración de este parámetro se mantiene significativamente elevada ( $p < 0.001$  a  $p < 0.01$ ) durante todo el periodo experimental. Como era de esperar, el patrón de respuesta a la comida que presentan los cloruros es inverso al descrito para los bicarbonatos (Fig. 26; Tabla VI<sub>b</sub>).

El distinto patrón de respuesta obtenido, tanto en flujo como en electrolitos, con los dos tipos de alimentación empleados, leche y lactorreemplazante, puede explicarse en base a las diferencias que ocurren en el vaciamiento abomasal de ambos tipos de alimento, así como a los distintos valores de pH que se producen en el duodeno proximal (Hernandez Clua, 1985). A diferencia de lo que ocurre con la alimentación natural, en los cabritos alimentados con el sustituto lácteo, los valores de pH de la digesta abomasal vaciada



se mantienen por encima o alrededor de 5.0 durante las seis primeras horas después de la toma del alimento, lo que descarta una posible liberación de secretina, que induciría el incremento observado en el flujo de jugo pancreático. No obstante, dado que con este tipo de alimento, el vaciamiento abomasal de nutrientes como grasa y proteína, aunque irregular, se mantiene al menos durante ocho horas, el incremento observado podría atribuirse a la liberación de CCK; de hecho, la concentración de proteína en el jugo segregado presenta variaciones de tipo oscilante (Fig.27; Tabla VI<sub>b</sub>)

Si aceptamos que la respuesta en flujo no tiene un origen secretínico, sorprende el aumento en la concentración de bicarbonato que presenta el jugo pancreático segregado en respuesta a la comida. Sin embargo, puesto que el incremento que experimenta dicho parámetro es cuantitativamente inferior al observado en respuesta a la ingesta de leche (Fig. 10 y 26), podríamos atribuir dicho incremento a la liberación postprandial de VIP; de hecho, en terneros, la sustitución de proteína láctea por proteína de soja produce un aumento en los niveles plasmáticos de dicha hormona en respuesta a la comida (Guilloteau y col., 1986). Al fenómeno descrito también puede contribuir la falta de especificidad en los efectos de la CCK, ya que durante el periodo postnatal presenta efectos semejantes a la secretina, debido, probablemente, a una falta de especificidad de los receptores hormonales en las celulares acinares pancreáticas (Zoppi y col., 1972)

El análisis comparativo de la respuesta enzimática a la comida, leche ó sustituto lácteo, muestra que, desde el punto de vista cuantitativo, no existen diferencias en los incrementos que experimenta la concentración de proteínas ni en los que se producen en las actividades enzimáticas de lipasa y quimiotripsina (Fig. 27, 28 y 29). Por el contrario, la amilasa, en los animales alimentados con el lactorreemplazante, presenta un patrón de respuesta diferente



al de los cabritos alimentados con leche, no existiendo en los primeros una respuesta clara a la comida (Fig. 30). Por lo que se refiere a las producciones de las distintas enzimas, mientras que no existen diferencias en la quimiotripsina, tanto la amilasa como la lipasa, y sobre todo esta última, están significativamente disminuidas a lo largo de las ocho horas postprandiales (Tablas VI<sub>b</sub>, VI<sub>c</sub> y VI<sub>d</sub>).

En cuanto al patrón cualitativo, podemos apuntar la existencia de mayores oscilaciones a lo largo de todo el periodo experimental con el sustituto lácteo.

A la vista de los resultados obtenidos en respuesta a la ingesta del lactorreemplazante, está claro que el mismo razonamiento aplicado anteriormente para la ingesta de leche, sería aplicable para este otro tipo de alimento. Como ya hemos indicado, el vaciamiento abomasal del lactorreemplazante utilizado por nosotros se mantiene, como en el caso de la leche, durante las ocho horas postprandiales, por lo que idénticos estímulos secretores serían responsables de la respuesta observada. Sin embargo, debemos destacar, en el caso del sustituto lácteo, la existencia de una secreción de lipasa marcadamente inferior, que podría ser responsable de una menor eficacia en la digestión de los lípidos de la dieta, y que se debería al distinto tipo de grasa presente en uno y otro tipo de alimento (Muñoz Hernandez, 1985).

Por último, las ligeras diferencias apuntadas en cuanto al patrón de respuesta cualitativo, debemos atribuir las al distinto tipo de vaciamiento abomasal obtenido con uno y otro tipo de alimento (Hernandez Clua, 1985).



#### 5.4.- Interrelaciones edad-tipo de alimento.

Como puede observarse en la figura 31, la evolución de los distintos parámetros estudiados por nosotros, a lo largo de la segunda, tercera y cuarta semana de vida de los animales, es muy semejante con ambos tipos de alimento, observándose solo ligeras diferencias para la actividad amilásica en la segunda semana de vida. En general, y sobre todo para algunos parámetros como producción de proteína y actividad lipásica, los valores son iguales o superiores en los cabritos alimentados con leche.

En relación a la respuesta global a la comida, el análisis factorial indica que no existen diferencias en el proceso de maduración del páncreas exocrino con el tipo de alimento empleado, al menos en las edades estudiadas por nosotros: solo en lo que se refiere a contenido en amilasa del jugo pancreático segregado parece existir una interacción entre ambos factores, edad y tipo de alimento. No obstante, dado los bajos niveles de enzimas amilolíticos, dudamos que el hecho reseñado tenga alguna significación biológica.



-----CONCLUSIONES-----



Los resultados experimentales descritos y discutidos nos permiten extraer las siguientes conclusiones:

**CONCLUSION 1ª :** La preparación quirúrgica diseñada por nosotros permite:

1º) estudiar la secreción pancreática exocrina en condiciones fisiológicas optimas y

2º) llevar a cabo el estudio de breves etapas del desarrollo postnatal, dada la rápida recuperación de los animales.

**CONCLUSION 2ª :** Se aportan por primera vez datos experimentales sobre el volumen y la composición, tanto en electrolitos como en enzimas, de la secreción pancreática exocrina en cabritos lactantes.

**CONCLUSION 3ª :** En ausencia de estímulos, el volumen y el contenido en enzimas amilolíticas y lipolíticas del jugo pancreático segregado, se incrementan con la edad del animal alcanzando valores máximos entre la tercera y cuarta semana de vida, lo que implica la existencia de un proceso de maduración. En este aspecto el cabrito se asemeja a otras especies de rumiantes durante la etapa de lactancia.

**CONCLUSION 4ª :** Con alimentación natural, la respuesta del páncreas exocrino a la comida se prolonga en el tiempo debido a la existencia de un patrón de vaciamiento abomasal continuo en el duodeno, que permite la acción sostenida de estímulos principalmente hormonales, implicados en la respuesta.

**CONCLUSION 5ª :** La distinta respuesta, en flujo y composición, del páncreas exocrino a la comida puede atribuirse a un proceso de maduración de los mecanismos secretores y reguladores, desde la segunda a la cuarta semana de vida.



**CONCLUSION 6ª** : A lo largo del proceso de maduración, la actividad quimiotripsica presenta un comportamiento diferente al de las otras enzimas estudiadas, lipasa y amilasa, lo que indica la existencia de una secreción no paralela de enzimas.

**CONCLUSION 7ª** : Las diferencias observadas en la secreción pancreática, como consecuencia del cambio en el tipo de alimento, debemos atribuirla a la distinta composición cualitativa del sustituto lácteo que implica cambios en el vaciamiento abomasal así como en los valores de pH de la digesta vaciada.

**CONCLUSION 8ª** : Los animales alimentados con el sustituto lácteo presentan niveles muy bajos de actividad lipásica en el jugo pancreático segregado lo que afecta negativamente a la utilización digestiva de la grasa de la dieta.

**CONCLUSION 9ª** : No existen diferencias en el proceso de maduración del páncreas exocrino con el tipo de alimento empleado, al menos en las edades estudiadas por nosotros; solo en lo que se refiere al contenido en amilasa del jugo pancreático segregado, parece existir una interacción entre edad y tipo de alimento. No obstante, dado los bajos niveles existentes de esta enzima, dudamos que el hecho reseñado tenga alguna significación biológica.



-----BIBLIOGRAFIA-----



Adelson, J.W., Miller, P.E. (1985). Pancreatic secretion by nonparallel exocytosis: potential resolution of a long controversy. *Science* 228, 993-996.

Aliev, A.A. (1966). Modern methods of operating on entire animals in studying the digestive and intermediate exchange substances of ruminants. *Memoria de Tesis Doctoral*. Moscú.

Aliev, A.A., Garanina, N.A. (1982). Rate of secretion of free amino-acids and protein with pancreatic juice and the enzyme activity of pancreatic juice in young cattle 1 to 180 days old. *Byulletin Vsesoyuznogo*. 3, 21-24.

Aliev, A.A., Garanina, N.A. (1984). Secretory function of the pancreas in calves during early postnatal ontogenesis. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*. 4, 11-16.

Andren-Sandberg, A., Ihse, I. (1983). Regulatory effects on the pancreas of intraduodenal pancreatic juice and trypsin in the syrian golden hamster. *Scand. J. Gastroenterol.* 18(5), 697-706.

Auricchio, S., Rubino, A., Mürset, G. (1965). Intestinal glycosidase activities in the human embryo, fetus and newborn. *Pediatrics*. 35, 944-954.

Aydin, A., Haktan, M., Çakir, E. (1986). Basal and postprandial gastrin levels in the early neonatal period. *Turkish Journal of Pediatrics*. 28(2), 115-121.

Ban, J.L., Reeder, D.D., Clendinnen, B.G., Hircse, F.M., Miller, J.H., Thompson, J.C. (1970). Concentration of antral gastrin in the fetal, neonatal and adult dog. *Arch. Surg. Chicago*. 101, 406-410.



Beare, J.L., Gregory, E.R.W., Morrison Smith, D., Campbell, J.A. (1961). The effect of rapeseed oil on reproduction and on the composition of rat milk fat. *Can. J. Biochem. Physiol.* 39, 195-201.

Bell, F.R., Watson, D.J. (1975). The excitatory and inhibitory effect of the duodenal perfusate on gastric (abomasal) motility in the calf. In *Proceedings of the Fifth International Symposium on Gastrointestinal Motility*. Ed. Vantrappen, G. Belgica. pp 336-342.

Bloom, S.R., Edwards, A.V., Vaughan, N.J.A. (1974). The role of the autonomic innervation in the control of glucagon release in the calf. *J. Physiol.* 236, 611-623.

Bloom, S.R., Edwards, A.V., Hardy, R.N., Malinowska, K.W., Silver, M. (1975). Cardiovascular and endocrine responses to feeding in the young calf. *J. Physiol.* 235, 135-155.

Bloom, S.R., Edwards, A.V., Hardy, R.N. (1978a). The role of the autonomic nervous system in the control of glucagon, insulin and pancreatic polypeptide release from the pancreas. *J. Physiol.* 280, 9-24.

Bloom, S.R., Edwards, A.V., Hardy, R.N. (1978b). The role of the autonomic nervous system in the control of pancreatic endocrine responses to milk ingestion in the calf. *J. Physiol.* 280, 37-53.

Bloom, S.R., Edwards, A.V., Mitchell, S.J. (1979). Release of vasointestinal peptide from the gastrointestinal tract in response to autonomic stimulation in the calf. *J. Physiol.* 289, 47-67.

Brand, S.J. (1982). The postnatal development of cholecystokinin-like activity in the brain and small intestine of the rat. *J. Physiol. Lond.* 326, 425-433.



Braude, R., Newport, M.J. (1973). Artificial rearing of pigs: 4. The replacement of butterfat in a whole milk diet by either beef tallow, coconut oil or soya-bean oil. *Br. J. Nutr.* 29, 447-455.

Brown, J.J., Perry, T.W. (1981). Trypsin and chymotrypsin development in the neonatal lamb. *J. Anim. Sci.* 52, 356-361.

Caple, I., Heath, T. (1972). Regulation of output of electrolytes in bile and pancreatic juice in sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 25, 155-165.

Caple, I., Heath, T. (1975). Biliary and pancreatic secretions in the sheep: Their regulation and roles. In *Digestion and Metabolism in the Ruminant. Proceeding of the fourth International Symposium on Ruminant Physiology.* Ed. McDonald, I.W., Warner, A.C.I. pp 91-100.

Case, R.M. (1986). Physiology and biochemistry of the exocrine pancreas. *Curr. Op. Gastroenterol.* 2, 634-649.

Corring, T., Aumaitre, A. (1970). Mise en place et évolution de l'équipement enzymatique du pancréas exocrine du jeune rat pendant la période embryonnaire, l'allaitement et le sevrage. *Annls. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 10, 431-441.

Corring, T., Aumaitre, A., Durand, G. (1978). Development of digestive enzymes in the piglet from birth to 8 weeks. I. Pancreas and pancreatic enzymes. *Nutr. Metab.* 22, 231-243.

Corring, T., Durand, G., Henry, Y. (1982). Some aspects of development and nutrition in the monogastric animal during postnatal life. *Wld. Rev. Nutr. Diet.* 39, 124-190.

Chey, W.Y., Chang, T.M., Lee, K.Y., Rominger, J., Rhodes, R.A., You, C.H. (1981). Secretin Physiology. In *Gut hormones.* Ed. Bloom, S.R., Polak, J.M. Edimburgo. pp 213-219.



Davicco, M.J., Lefaiivre, J., Barlet, J.P. (1979). The influence of bovine pancreatic polypeptide on pancreatic exocrine secretion in young calves. *Annls. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 19(3B), 843-848.

Davicco, M.J., Lefaiivre, J., Barlet, J.P. (1980). The endocrine regulation of exocrine pancreas in preruminant milk-fed calves. *Annls. Rech. Vet.* 11(2), 123-132.

Debas, H.T., Yamagishi, T. (1978). Evidence for pyloropancreatic reflex for pancreatic exocrine secretion. *Am. J. Physiol.* 234, E468-471.

Deschodt-Lanckman, M., Robberecht, P., Camus, J., Baya, C., Christophe, J. (1974). Hormonal and dietary adaptation of rat pancreatic hydrolases before and after weaning. *Am. J. Physiol.* 226, 39-44.

Dollard, A.M., Porter, J.W.G. (1957). Utilization of carbohydrates by the young calf. *Nature, Lond.* 179, 1299-1300.

Dumphy, J.E., Stephens, F.O. (1962). Experimental study of the effect of grafts in the common duct on biliary and hepatic function. *Ann. Surg.* 155, 906-910.

Ebert, R., Creutzfeld, W. (1980). Gastric inhibitory polypeptide. *En Clinics in Gastroenterology*. Ed. Creutzfeld, W., Saunders, C. Londres. pp 679-688.

Edwards, A.V., Bloom, S.R. (1978a). Nervous control of pancreatic hormones. *En Gut Hormones*. Ed. Bloom, S.R. Edimburgo. pp 394-405.



Edwards, A.V., Bircham, P.M.M., Mitchell, S.J., Bloom, S.R. (1978b). Changes in the concentration of vasoactive intestinal peptide in intestinal lymph in response to vagal stimulation in the calf. *Experientia* 34, 1186-1187.

Edwards-Webb, J.D., Thompson, S.Y. (1977). Studies on lipid digestion in the preruminant calf. 2. A comparison of the products of lipolysis of milk fat by salivary and pancreatic lipases in vitro. *Br. J. Nutr.* 37, 431-438.

Edwards-Webb, J.D., Thompson, S.Y. (1978). Studies on lipid digestion in the preruminant calf. 3. The action of salivary lipase on milk fat in the abomasum. *Br. J. Nutr.* 40, 125-131.

Euler, A.R., Byrne, W.J., Cousins, L., Aument, M.E., Leaks, R.D., Walsh, J.H. (1977). Increased serum gastrin concentration and gastric acid hyposecretion in the immediate newborn period. *Gastroenterology* 72, 1271-1273.

Euler, A.R., Byrne, W.J., Meis, P.J., Leaks, R.D., Aument, M.E. (1979). Basal and pentagastrin stimulated acid secretion in newborn human infants. *Pediatr. Res.* 13, 36-37.

Evan, D.E. (1959). Milk composition of mammals whose milk is not normally used for human consumption. *Dairy Sci.* 21, 277-288.

Florholmen, J., Burhol, P.G., Jorde, R., Waldum, H.L. (1984). The effect of graded doses of secretin on serum trypsin, serum pancreatic amylase, serum insulin, plasma somatostatin and plasma pancreatic polypeptide in man. *Scand. J. Gastroenterol.* 19, 24-30.



Garnot, P., Toullec, R., Thapon, J.L., Martin, P., Ninh-Thu, H., Mathieu, C., Ribadeau Dumas, B. (1977). Influence of age, dietary protein and weaning on calf abomasal enzymatic secretion. *J. Dairy. Res.* 44, 9-23.

Garzon, B., Ducroc, R., Geloso, J.P. (1981). Ontogenesis of gastric acid secretion in fetal rat. *Pediatr. Res.* 15, 921-925.

Gonzalez Fernandez, F., Argüelles Martin, F., Pineda Albornoz, A., Ortega Silva, F., Fuerte Seda, M., Gonzalez-Fernandez, J.L., Lopez de la Manzanara, M.C., Valls Sanchez de Puerta, A. (1983). Blood gastrin in the child. Changes in digestive disorders. *Rev. Esp. de Pediatría* 39(231), 172-176.

Gooden, J.M., Lascelles, A.K. (1973). Relative importance of pancreatic lipase and pregastric esterase to lipid absorption in calves 1-2 weeks of age. *Aust. J. Biol. Sci.* 26, 625-633.

Gorelick, F.J., Jamieson, J.P. (1981). Structure-function. Relationships of the pancreas. En *Physiology of the Gastrointestinal tract*. Ed. Johson, L.R. Raven Press, New York.

Gorrill, A.D.L., Thomas, J.W., Stewart, W.E., Morrill, J.L. (1967). Exocrine pancreatic secretion by calves fed soybean and milkprotein diets. *J. Nutr.* 92, 86-92.

Gorrill, A.D.L., Thomas, J.W. (1967). Body weight changes, pancreas size and enzyme activity, and proteolytic enzyme activity and protein digestion in intestinal contents from calves fed soybean and milk protein diets. *J. Nutr.* 92, 215-223.

Gorrill, A.D.L., Schingoethe, D.J., Thomas, J.W. (1968). Proteolytic activity and in vitro enzyme stability in small intestinal contents from ruminant and no ruminant at different ages. *J. Nutr.* 96, 342-348



Grizard, J., Toullec, P., Guilloteau, P., Patureau-Mirand, P. (1982). Influence de la cinétique d'évacuation gastrique de l'aliment sur l'insulinémie chez le veau preruminant. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 22, 475-484.

Grossman, M. I. (1969). Structure of secretin. *Gastroenterology* 57, 610-613.

Guilloteau, P., Pareulle, J.L., Toullec, R., Mathieu, C.M. (1975). Utilization des protéines par le veau preruminant à l'engrais. III. Influence du remplacement des protéines du lait par celles du poisson sur la vidange stomacale. *Ann. Zootech.* 24, 243-253.

Guilloteau, P., Toullec, R. (1983). Circadian changes in the abomasal secretions of the preruminant calf. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 23, 967-977.

Guilloteau, P., Corring, T., Garnot, P., Martin, P., Toullec, R., Durand, G. (1983). Effects of age and weaning on enzymes activities of abomasum and pancreas of the lamb. *J. Dairy. Sci.* 66, 2373-2385.

Guilloteau, P., Chayvialle, J.A., Toullec, R., Grongnet, J.F., Dardillat, C. (1984). Early life pattern of plasma secretin level in calves. *Can. J. Anim. Sci.* 64 (Suppl.), 100-101.

Guilloteau, P., Chayvialle, J.A., Toullec, R., Grongnet, J.F., Dardillat, C. (1985). Evolution du taux circulant de gastrine chez le veau. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 25(4B), 780.

Guilloteau, P., Chayvialle, J.A., Toullec, R., Grongnet, J.F., Dardillat, C., Bernard, C. (1986a). Evolution du taux plasmatique de CCK avec l'âge et le régime alimentaire chez le jeune veau. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 26(1B), 377-378.



Guilloteau, P., Corring, T., Chayvialle, J.A., Bernard, C., Sissons, J.W. Toullec, R. (1986b). Effects of soya protein on digestive enzymes, gut hormones and anti-soya plasma levels in the preruminant calf. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 26(2B), 717-728.

Guilloteau, P., Chayvialle, J.A., Mendy, F., Rogers, L., Toullec, R., Bernard, C., Mouats, A., Faverdin, P. (1987). Effet du caséinomacropéptide (CMP) sur la sécrétion gastrique et les taux circulants d'hormones digestives chez le veau preruminant. *Reprod. Nutr. Dévelop.* 27(1B), 287-288.

Gusakov, V.K., Kuryshka, I.P. (1985). Secretory function of the pancreas in calves. *Sel'skagaspadarchykh Navuk* 3, 92-94.

Hand, B.H. (1973). Anatomy and function of the extrahepatic biliary system. En *Clinics in gastroenterology*. Ed. Bouchier, W.B. Londres. pp 3-29.

Hahn, P., Koldowsky, O. (1966). Utilization of nutrients during postnatal development. En *Int, Series of Monographies in pure and applied Biology, Zoology division*, Vol. 33. Pergamon Press. Oxford.

Harada, E., Niiyama, M., Syuto, B. (1986). Hepatic bile and pancreatic exocrine secretions evoked by gastrointestinal peptides in sheep. *Comp. Biochem. Physiol.* 85(4), 729-734.

Harding, R., Johnson, P., McClelland, M.E., McCleod, C.N., Whyte, P.L. (1978). Respiratory and cardiovascular responses to feeding in lambs. *J. Physiol.* 284, 3-13.

Harrison, F.A., Leat, W.M.F. (1975). Digestion and absorption of lipids in non-ruminant and ruminant animals: a comparison. *Proc. Nutr. Soc.* 34, 203-210.



Hecker, J.F. (1974). Experimental surgery on the small ruminants. Ed. Butterworth & Co., Camelot Press Ltd. Southampton. Gran Bretaña. pp 135-136.

Henning, S.J. (1981). Postnatal development: Coordination of feeding, digestion and metabolism. Am. J. Physiol. 241, G199-214.

Henshel, M.J. (1973). Comparison of the development of proteolytic activity in the abomasum of the preruminant calf with that in the stomach of young rabbit and guinea pig. Br. J. Nutr. 30, 285-296.

Hernandez-Clua, O.D. (1985). Vaciamiento abomasal en el prerumiante (cabra granadina). Influencia del tipo de alimentación. Tesina de Licenciatura. Fac. Farmacia. Univ. Granada.

Hernandez-Clua, O.D., Mañas, M., Martinez de Victoria, E., Valverde, A., Naranjo, J.A. (1988). Vaciamiento abomasal en cabritos lactantes. I. Influencia de la alimentación sobre el flujo y pH de la digesta abomasal. Arch. Zoo. (en prensa).

Hernandez-Clua, O.D., Valverde, A., Mañas, M., Naranjo, J.A., Martinez de Victoria, E. (1988). Vaciamiento abomasal en cabritos lactantes. II. Influencia de la alimentación sobre el patrón de proteína y grasa de la digesta abomasal. Arch. Zoo. (en prensa).

Herrera, F., Kemp, D.R., Tsukamoto, M., Woodward, E.R., Dragstedt, L.R. (1968). A new cannula for the study of pancreatic function. J. Appl. Physiol. 25, 207-209.

Hickson, J.C.D. (1970). The secretion of pancreatic juice in response to stimulation of the vagus nerve in the lamb. J. Physiol. 206, 275-297.



Hill, K.J. (1956). Gastric development and antibody transference in the lamb, with some observation on the rat and guineapig. Q. J. Exp. Physiol. 41, 421-432.

Hill, K.J. (1961). Digestive physiology and nutrition of the ruminant. ED. Lewis, D. Butterworths. Londres. p 48.

Hill, R.T., Taylor, R.B. (1957). Collection of pancreatic juice from the conscious shepp. J. Physiol. 139, 26P.

Hoffman, G. (1963). Les animaux de laboratoires. Ed. Vigot, Paris. p 24

Huber, J.T., Jacobson, N.L., McGilliard, A.D., Allen, R.S. (1961a). Utilization of carbohydrates introduced directly into the omaso-abomasal area of the stomach of cattle of various ages. J. Dairy Sci. 44, 321-330.

Huber, J.T., Jacobson, N.L., Allen, R.S., Hartman, P.A. (1961b). Digestive enzyme activities in the young calf. J. Dairy Sci. 44, 1494-1499.

Ikesaki, M., Johnson, L.R. (1983). Development of sensitivity to different secretagogues in the rat stomach. Am. J. Physiol. 244, G165-170.

Jenkins, K.J., Mahadevan, S., Emmons, D.B. (1980). Suceptibility of proteins used in calf milk replacers to hydrolysis by various proteolytic enzymes. Can. J. Anim. Sci. 60, 907-914.

Jensen, S.L., Fahrenkrug, J., Holtst, J.J., Nielsen, O.V., Shaffalitzky, O. Secretory effects of VIP on isolated perfused porcine pancreas. Am. J. Physiol. 235(4), E387-392.



Johnson, L.R. (1981). Effects of gastrointestinal hormones on pancreatic growth. *Cancer* 47, 1640-1645.

Johnson, L.R. (1984). Effects of somatostatin and acid on inhibition of gastrin release in newborn rats. *Endocrinology* 114, 743-746.

Johnson, L.R. (1985). Functional development of the stomach. *Ann. Rev. Physiol.* 47, 199-215.

Kato, S., Usami, M., Ushijima, J. (1984). The effect of feeding on pancreatic exocrine secretion in sheep. *Jap. J. Zootech. Sci.* 55, 973-977.

Klump, J.G., Neale, A.V. (1930). The gastric and duodenal contents of normal infants and children. *Am. J. Dis. Child* 40, 1215-1229.

Koshimizu, T. (1983). The development of pancreatic and gastrointestinal somatostatine-like immunoreactivity and its relationship to feeding in neonatal rats. *Endocrinology* 112, 911-916.

Krahmer, R., Schröder, L. (1976). *Anatomía de los animales domesticos* Ed. Acribia, Zaragoza. España. pp 204-205.

Lahaie, R.G., Michel, R., Michel, G., Dagorn, J.C. (1986). Nonparallel secretion of enzymes by the rabbit pancreas. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 64, 297-302.

Larsson, L.I., Jorgensen, L.M. (1978). Ultrastructural and cytochemical studies on the cytodifferentiation of duodenal endocrine cells. *Cell Tissue Res.* 194, 79-102.



Larsson, L.I., Goltermann, N., De-Magistris, L., Rehfeld, J.F., Schwartz, T.W. (1979). Somatostatin cell processes as pathways for paracrine secretion. *Science* 205, 1393-1395.

Larsson, L.I. (1980). Peptide secretory pathways in gastrointestinal tract: cytochemical contributions to regulatory physiology of the gut. *Am. J. Physiol.* 239, G237-246.

Lawlor, M.J., Hopkins, S.P. (1971). The functioning of the oesophageal groove reflex and comparison of the performance of lambs fed individually and in groups. *Br. J. Nutr.* 26, 439-448.

Leat, W.M.F. (1971). Digestion and metabolism of carbohydrates in the foetal and neonatal ruminant. *Proc. Nutr. Soc.* 30(3), 236-243.

Lebas, F., Corring, T., Courtot, D. (1971). Equipement enzymatique du pancréas exocrine chez le lapin. Mise en place et évolution de la naissance au sevrage. Relation avec la composition du régime alimentaire. *Annls. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 11, 399-413.

Lichtenberger, L.M., Johnson, L.R. (1974). A possible role of gastrin in the ontogenic development of the small intestine. *Am. J. Physiol.* 227, G390-395.

Lichtenberger, L.M., Crandell, S.S., Plama, P.A., Morriss, F.H. (1981). Ontogeny of tissue and serum gastrin concentrations in fetal and neonatal sheep. *Am. J. Physiol.* 241, G234-241.

Lichtenberger, L.M. (1984). A search for the origin of neonatal hypergastrinemia. *J. Pediatr. Gastroent. Nutr.* 3, 161-166.

Lin, T.M., Evans, D.C., Chance, R.E., Spray, G.F. (1977). Bovine pancreatic peptide: action on gastric and pancreatic secretion in dogs. *Am. J. Physiol.* 232, E311-315.



Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., Randall, R. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.

Lucas, A., Adrian, T.E., Cristofides, N., Bloom, S.R., Aynsley-Green, A. (1980). Plasma motilin, gastrin, and enteroglucagon and feeding in the human newborn. *Arch. Dis. Child.* 55, 673-677.

Magee, D.F. (1961). An investigation into the external secretion of the pancreas in the sheep. *J. Physiol.* 158, 132-143.

Malloy, M.H., Morriss, F.H., Denson, S.E., Weisbrodt, N.W., Lichtenberger, L.M., Adcock, E.W. (1979). Neonatal gastric motility in dogs: Maturation and response to pentagastrin. *Am. J. Physiol.* 236, E562-566.

McCormick, R.J., Stewart, W.E. (1967). Pancreatic secretion in the bovine calf. *J. Dairy Sci.* 50, 568-578.

McLeay, L.M., Bell, F.R. (1980). Effect of cholecystokinin, secretin, glucagon and insulin on gastric emptying and acid secretion in the calf. *Am. J. Vet. Res.* 41(10), 1590-1594.

Michels, N.H. (1953). Variational anatomy of the hepatic, cystic and retroduodenal arteries. *Arch. Surg.* 66, 20-32.

Moazan, F., Kirby, W.J., Rodgers, B.M., McGuican, J.E. (1984). Physiology of serum gastrin production in neonates and infants. *Annals of Surgery* 199(4), 389-392.

Morril, J.L., Stewart, W.E., McCormick, R.J., Fryer, H.C. (1970). Pancreatic amylase secretion by young calves. *J. Dairy Sci.* 53, 72-78.



Muñoz Hernandez, F.J. (1985). Ensayos de metabolismo en ganado caprino desde el nacimiento hasta la etapa de rumiante. Lactancia artificial. Tesis Doctoral. Fac. Veterinaria. Univ. Cordoba.

Naranjo, J.A., Valverde, A., Martinez de Victoria, E., Mañas, M., Moreno, M. (1986). Surgical preparation for the study of pancreatic exocrine secretion in the conscious preruminant goat. *Lab. Anim.* 20, 231-233.

Négrel, R., Serrero, G., Fernandez-Lopez, V., Ailhaud, G. (1976). Esterolytic activities of rat intestinal mucosa. *Eur. J. Biochem.* 71, 249-258.

Newhook, J.C., Titchen, D.A. (1974). Effects of vagotomy, atropine, hexametonium and adrenaline on the destination in the stomach of liquids sucked by milk-fed lambs and calves. *J. Physiol.* 237, 415-430

Noelting, G., Bernfeld, P. (1948). Sur les enzymes amylolytiques: III. la  $\alpha$ -amilase; dosage d'activité et controle de l'absence d' $\beta$ -amilase. *Helv. Chim. Acta* 31, 286-290.

Norman, A., Strandvik, B., Ojamae, O. (1972). Bile acids and pancreatic enzymes during absorption in the newborn. *Acta Paediatr. Scand.* 61, 571-576.

Noyer, M., Bui, N., Deschodt-Lanckman, P., Robber-Echt, M., Woussen, C., Christophe, J. (1980). Postnatal development of the cholecystkinin-gastrin family of peptides in the brain and gut of the rat. *Life Sci.* 27, 2197-2203.

Oddi, R. (1887). D'une disposition a sphincter speciale de l'ouverture du canal choledoque. *Arch. Ital. Biol.* 8, 317-322.



Osnes, M., Hanssen, L.E., Lehnert, P., Flaten, O., Larsen, S., Londong, W., Otte, M. (1980). Exocrine pancreatic secretion and immunoreactive secretin release after repeated intraduodenal infusions of bile in man. *Scan. J. Gastroenterol.* 15(8), 1033-1039.

Osnes, M. (1981). Does human bile stimulate the exocrine pancreas?. *Scan. J. Gastroenterol.* 16(1), 45-47.

Owsley, W.F., Orr, D.E., Tribble, L.F. (1986). Effect of age and diet on the development of the pancreas and the synthesis and secretion of pancreatic enzymes in the young pig. *J. Anim. Sci.* 63, 497-504.

Paquette, T.L., Shulman, D.F., Alpers, D.H., Jaffe, B.M. (1982). Postnatal development of intestinal secretin in rats and guinea pigs. *Am. J. Physiol.* 243, G511-517.

Peitsch, W., Takeushi, K., Johnson, L.R. (1981). Mucosal gastrin receptor. VI. Induction by corticosterone in newborn rats. *Am. J. Physiol* 240, G442-449.

Pekas, J.C., Thompson, A.M., Hays, V.W. (1966). Characteristics of the exocrine pancreatic secretion of the young pig. *J. Anim. Sci.* 25, 113-118.

Phaneuf, L.P. (1961). Chronic duodenal and pancreatic fistulas in the sheep. *Cornell Vet.* 51, 47-52.

Pierzynowski, S. (1983). A method of collecting pancreatic juice and bile in conscious sheep. *Vet. Med.* 11, 65-67.

Pierzynowski, S., Barej, W. (1984). The dependence of exocrine pancreatic secretion on insuline in sheep. *Quart. J. Exp. Physiol.* 69, 35-39.



Prochazka, P., Hahn, P., Koldowsky, O., Noh Ynek, M., Rokos, J. (1964). The activity of  $\alpha$ -amylase in homogenates of the pancreas of rats during early postnatal development. *Physiol. Bohemoslov* 13, 288-291.

Ramsey, H.A., Young, J.W. (1961). Role of pregastric esterase in the abomasal hydrolysis of milk fat in the young calf. *J. Dairy Sci.* 44, 2227-2231.

Rathelot, J., Julien, R., Canioni, P., Coeroli, C., Sarda, L. (1975) Studies on the effect of bile salt and colipase on enzymatic lipolysis. Improved method for the determination of pancreatic lipase and colipase. *Biochimie* 57, 1117-1122.

Reboud, J.P., Ben Abdeljlil, A., Desneulle, P. (1962). Variations de la teneur on enzymes du pancréas de rat en fonction de la composition des regimes. *Biochem. Biophys. Acta* 58, 326-337.

Rehfeld, J.S. (1980). Cholecystokinin. En: *Clinics in gastroenterology*. Ed. Creutzfeldt, W.; Saunders Co., Londres. pp 593-607.

Reynolds, J., Heath, T. (1981). Non parallel secretion of pancreatic enzymes in sheep following hormonal or vagal stimulation. *Comp. Biochem. Physiol.* 66A, 495-500.

Richter, B.D., Scheeman, B.O. (1987). Pancreatic response to longterm feeding of soyprotein isolate, casein or eggwhite in rats. *J. Nutr.* 117, 247-252.



Robberecht, P., Desdchodt-Lankman, M., Camus, J., Bruylands, J., Christophe, J. (1971). Rat pancreatic hydrolases from birth to weaning and dietary adaption after weaning. *Am. J. Physiol.* 221, 376-381.

Robinson, T.M., Dunphy, J.E. (1962). An experimental study of the effect of pancreatic juice on the gall bladder. *Gastroenterology* 42, 36-42.

Rogers, I.M., Davidson, D.C., Lawrence, J., Ardill, J., Buchanan, K.D. (1974). Neonatal secretion of gastrin and glucagon. *Arch. Dis. Child* 49, 796-801.

Rokos, J., Hahn, P., Koldovsky, O., Prochazka, P. (1963). The post-natal development of lipolytic activity in the pancreas and small intestine of the rat. *Physiol. Boemoslov* 12, 213-218.

Roy, D.M., Scheeman, B.O. (1981). Effect of soyprotein, casein, and trypsin inhibitor on cholesterol, bile acids and pancreatic enzymes in mice. *J. Nutr.* 111, 878-885.

Roy, J.H.B., Stobo, I.J.F. (1975). Nutrition of the preruminant calf. En: IVth International Symposium of Ruminant Physiology. pp 30-48.

Ruckebusch, Y., Dardillat, C., Guilloteau, P. (1983). Development of digestive functions in the newborn ruminant. *Annls. Rech. Vet.* 14(4) 360-374.

Sann, L., Chayvialle, J.A.P., Bremond, A., Lambert, R. (1975). Serum gastrin level in early childhood. *Arch. Dis. Child* 50, 782-785.



Sauvant, D. (1971). Quelques problèmes physiologiques que pose l'élevage du jeune ruminant et leurs conséquences pratiques. En: Jornadas sobre los jóvenes rumiantes. I.N.R.A. Publ., Versailles. Francia. pp 16-23.

Sarles, H. (1977). The exocrine pancreas. En: International Review of Physiology. Ed. Crane, R.K.; University park Press. Baltimore. Vol 12, pp 174-221.

Schulz, I. (1981). Electrolyte and fluid secretion in the exocrine pancreas. En: Physiology of the gastrointestinal tract. Ed. Johnson, L.R.; Raven Press. New-York. pp 795-819.

Schusdziarra, V., Harris, V., Conlon, J.M., Arimura, A., Unger, R. (1978). Pancreatic and gastric somatostatin release in response to intragastric and intraduodenal nutrients and HCl in the dog. J. Clin. Invest. 62, 509-518.

Schwartz, T.W., Stadil, F., Chance, R.E., Rehfeld, J.E., Larsson, L., Moon, N. (1976). Pancreatic polypeptide response to food in duodenal ulcer patients before and after vagotomy. Lancet 1, 1102-1105.

Sedgman, C.A., Roy, J.H.B., Thomas, J. (1985). Digestion, absorption and utilization of single-cell protein by the preruminant calf. Abomasal outflow and its composition from calves given milk-substitute diets containing varying amounts of either bacterial or yeast protein. Brit. J. Nutr. 53, 673-689.

Shulkes, A., Hardy, K.J. (1982). Ontogeny of circulating gastrin and pancreatic polypeptide in the foetal sheep. Acta Endocrinol 100, 565-572.

Singh, M., Webster, P.D. (1978). Neurohormonal control of pancreatic secretion. Gastroenterology 74, 295-309.



Sissons, S., Grossman, J.D. (1963). Anatomía de los animales domesticos. Ed. Salvat; Barcelona. España. pp 456-457.

Smith, R.H., Sissons, J.W. (1975). The effect of different feeds, including those containing soya-bean products, on the passage of digesta from the abomasum of the preruminant calf. Br. J. Nutr. 33, 329-349.

Snook, J.T. (1971). Effect of diet on development of exocrine pancreas of the neonatal rat. Am. J. Physiol. 221, 1388-1391.

Staub, J.L., Sarles, H. (1979). Inhibition of rat basal pancreatic secretion by intraduodenal bile. Digest. Dis. Sci. 24(8), 602-608.

Studzinski, T., Bobowiec, R. (1980). Effect of intraduodenal infusion of hydrochlorid acid and sodium bicarbonate on secretion and contents of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, and calcium in pancreatic juice and bile of sheep. Polskie Archiwum Weterynaryjne 22(2), 205-217.

Tagari, H., Roy, J.H.B. (1969). The effect of heat treatment on the nutritive value of milk for the young calf. 8. The effect of pre-heating treatment of spray-dried skim milk on th pH and the content of total, protein and non-protein of the pyloric outflow. Br. J. Nutr. 23, 763-782.

Takeushi, K., Peitsch, W., Johnson, L.R. (1981). Mucosal gastrin receptor. V. Development in the newborn rat. Am. J. Physiol. 240, G163-169.

Taylor, R.B. (1960). A method for collection of pancreatic juice in the concious sheep. Res. Vet. Sci. 1, 111-115.



Taylor, I.L., Feldman, M., Richardson, Ch. T., Walsh, J.H. (1978). Gastric and cephalic stimulation of human pancreatic polypeptide release. *Gastroenterology* 75(3), 432-437.

Taylor, I.L., Impicciatore, M., Carter, D.C., Walsh, J.H. (1978). Effect of atropine and vagotomy on pancreatic polypeptide response to a meal in dogs. *Am. J. Physiol.* 235, E443-447.

Taylor, I.L., Solomon, T.E., Walsh, J.H., Grossman, M.I. (1979). Pancreatic polypeptide. Metabolism and effect on pancreatic secretion in dogs. *Gastroenterology* 76(3), 524-528.

Ternouth, J.H., Siddons, R.C. (1971). Pancreatic secretion in the milk fed calf. *Proc. Nutr. Soc.* 30, 89A.

Ternouth, J.H., Buttle, H.L. (1973). Concurrent studies on the flow of digesta in the duodenum and of exocrine pancreatic secretion of calves. (The collection of the exocrine pancreatic secretion from a duodenal cannula). *Br. J. Nutr.* 29, 387-397.

Ternouth, J.H., Roy, J.H.B., Siddons, R.C. (1974a). Concurrent studies of the flow of digesta in the duodenum and of exocrine pancreatic secretion of calves. (The effects of addition of fat to skim milk and of severe preheating treatment of spraydried skim-milk powder). *Br. J. Nutr.* 31, 13-26.

Ternouth, J.H., Roy, J.H.B., Stobo, I.J.F., Ganderton, P., Gillies, C.M., Shotton, S.M. (1974b). The effect of experimental variation in the quantity of pancreatic secretion on the digestion and utilization of milk-substitute diets by the calf. *Br. J. Nutr.* 32, 37-45.



Ternouth, J.H., Roy, J.H.B., Thompson, S.Y., Toothill, J., Gilles, M.C., Edwards-Webb, J.D. (1975). Concurrent studies on the flow of digesta in the duodenum and of exocrine pancreatic secretion of calves. 3. Further studies on the addition of fat to skim milk and the use of non-milk proteins in milk-substitute diets. *Br. J. Nutr.* 33, 181-196.

Ternouth, J.H., Roy, J.H.B., Shotton, S.M. (1976). Concurrent studies of the flow of digesta in the duodenum and of exocrine pancreatic secretion of calves. 4. The effect of age. *Br. J. Nutr.* 36, 523-535.

Thivend, P., Toullec, R., Guilloteau, P. (1980). Digestive adaptation in the preruminant. In: Digestive physiology and metabolism in ruminants. Ed. Ruckebush, Y., Thivend, P.; Vth Int. Symp. Ruminant Physiol., N.T.P. press Ltd. Lancaster. pp 561-586.

Thompson, F.N., Hembrough, F.B., Reidesel, D.H., Wagner, W. (1970). Collection of unactivated sheep pancreatic juice. *J. Anim. Sci.* 31, 1036(103).

Toothill, J., Thompson, S.Y., Edwards-Webb, J.D. (1976). Studies on lipid digestion in the preruminant calf. The source of lipolytic activity in the abomasum. *Br. J. Nutr.* 36, 439-447.

Toothill, J. (1982). Studies on salivary and pancreatic lipases of the preruminant calf. *J. Dairy Res.* 49(3), 347-360.

Toullec, R., Thivend, P., Mathieu, C.M. (1971). Utilisation des protéines du lactosérum par le veau preruminant à l'engrais. I. Vidange stomacale comparée du lait entier et de deux laits de remplacement ne contenant que des protéines de lactosérum comme source de matières azotées. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 11, 435-453.



- Toullec, R., Guilloteau, P., Patureau-Mirand, P., Sissons, J.W. (1983). Digestion and absorption of protein in the preruminant. En: Protein, metabolism and nutrition. Ed. Arnal, M., Pion, P., Bonin, D.; I.N.R.A. Publ., Versailles. Francia. pp 245-261.
- Ulbrich, M., Hoffman, M., Hakim, N.F.A. (1981). Activity of pancreas lipase in growing sheep. *Archiv für Tierernährung* 31(2), 171-178.
- Walker, D.M. (1959). The development of the digestive system of the young animal. III. Carbohydrase enzyme development in the young lamb. *J. Agri. Sci.* 53, 374-380.
- Walker, D.M., Jagush, K.T. (1969). Utilization of the metabolizable energy of cow's milk by the lamb. En: Energy metabolism of farm animals. Ed. Blaxter, K.L., Kielanowski, J., Gretathorbek, Varsovia. Polonia. pp 187-193.
- Watkins, J.B. (1975). Mechanism of fat absorption and the development of gastrointestinal function. *Pediatr. Clin. Am.* 22, 721-730.
- Werlin, S.L., Grand, R.J. (1979). Development of secretory mechanism in rat pancreas. *Am. J. Physiol.* 236(4), E446-450.
- Widdowson, E.M. (1984). Milk and the newborn animal. *Proc. Nutr. Soc.* 43, 87-100.
- Williams, V.J., Roy, J.H.B., Gillies, C.M. (1976). Milk-substitute diet composition and abomasal secretion in the calf. *Br. J. Nutr.* 36, 317-335.
- Zalucki, G., Dejneka, J., Cebrat, E., Nejmark, L., Zawadzki, W. (1979). Influence of some gastrointestinal hormones on pancreatic secretion in sheep. *Acta Physiol. Pol.* 30(1), 218-220.



Zoppi, G., Andreotti, G., Pajno-Ferrera, F. (1972). Exocrine pancreas function in premature and fullterm neonates. *Pediatr. Res.* 6, 880-886.



DILIGENCIA

Reunido el Tribunal examinador en el día de la fecha, constituido por:

- D. Julio Boza López (Presidente)
- D.ª María A. López Rodríguez (Vocal)
- D.ª M.ª Remedios Saiz Sampelago (Vocal)
- D. Emilio M. de Victoria Muñoz (Vocal)
- D.ª Antonia Valverde Piñón (Secretario)

para juzgar la Tesis Doctoral del Licenciado Don

Jose Antonio Narraño Rodríguez

se acordó por unanimidad otorgar la calificación de "Apto" "Cum Laude"

para que conste, se extiende firmada por los componentes del Tribunal, la presente diligencia.

Granada, a 17 de Septiembre de 1988.

El Secretario,

*Antonia Valverde Piñón*  
Antonia Valverde Piñón

El Presidente,

*Julio Boza López*  
Julio Boza López

El Vocal,

El Vocal,

*Emilio M. de Victoria Muñoz*  
Emilio M. de Victoria Muñoz

*M.ª Remedios Saiz Sampelago*  
M.ª Remedios Saiz Sampelago

*María A. López Rodríguez*  
María A. López Rodríguez

Emilio M. de Victoria Muñoz

M.ª Remedios Saiz Sampelago

María A. López Rodríguez



1