

1116

UNIVERSIDAD DE GRANADA

---

FACULTAD DE CIENCIAS

REGULACION NERVIOSA DE LA  
SECRECION PANCREATICA  
EXOCRINA EN EL POLLO



G. M.º Salido Ruiz





La presente Tesis Doctoral fue expuesta y defendida el día 28 de Marzo de 1981 ante el correspondiente tribunal constituido por los siguientes Doctores:

Presidente: Prof. Dr. D. Fernando Jimenez Millán  
Catedrático de Zoología de la Fac.  
de Ciencias de la Univ. de Granada.

Vocales: Prof. Dr. D. Miguel Morell Ocaña. Catedrático de Fisiología General y Especial de la Fac. de Medicina de la Univ. de Málaga.

Prof. Dr. D. Julio Boza Lopez. Profesor de Investigación del CSIC. Estación Experimental del Zaidín. Granada.

Prof. Dr. D. Fermin Sanchez de Medina Contreras. Catedrático de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Univ. de Granada.

Secretario: Prof. Dr. D. Alejandro Esteller Perez.

Agregado del Dpto de Fisiología Animal de la Facultad de Biología de la Univ. de Salamanca.

Obtuvo la calificación de SOBRESALIENTE CUN LAUDE por unanimidad.







T-10-136

R=23.921

DEPARTAMENTO INTERFACULTATIVO DE FISILOGIA  
ANIMAL DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
GRANADA
N.º Documento 616469446
N.º Copias 11746498

REGULACION NERVIOSA DE LA SECRECION PANCREATICA  
EXOCRINA EN EL POLLO.



REGULACION NERVIOSA DE LA SECRECION PANCREATICA  
EXOCRINA EN EL POLLO

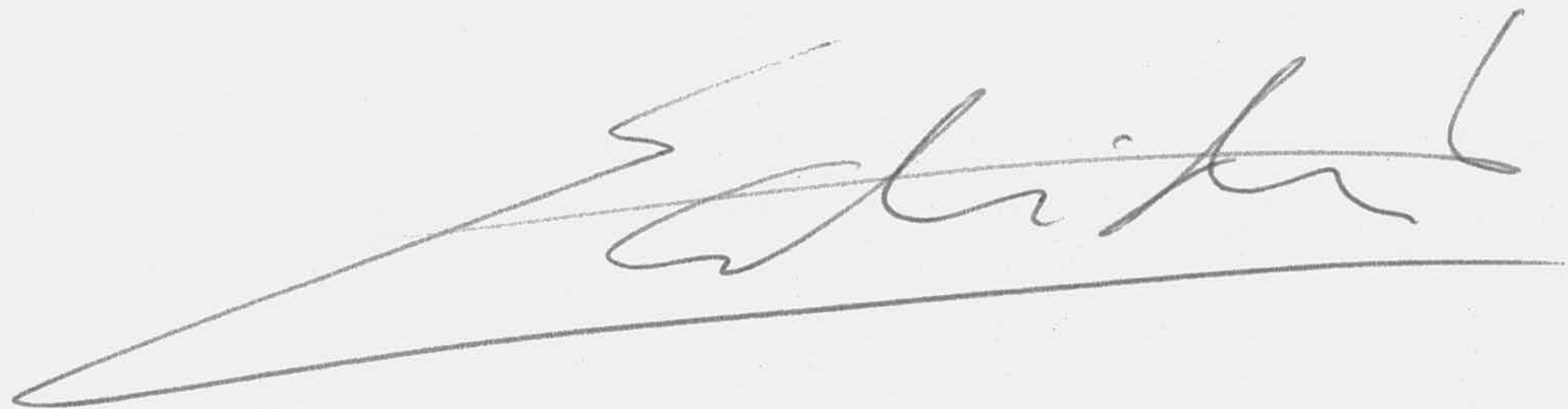
Memoria presentada para  
aspirar al Grado de Doctor  
por el Licenciado Gines Ma  
Salido Ruiz.

Esta Tesis ha sido realizada bajo la direccion de:

Prof.Dr.D<sup>a</sup>.Maria A.Lopez  
Rodriguez.

Prof.Dr.D.Alejandro Esteller  
Perez.

Licenciado D.Gines Ma Salido  
Ruiz, aspirante al Grado de  
Doctor.

A large, stylized handwritten signature in dark ink, likely belonging to the author, Gines Ma Salido Ruiz. The signature is written in a cursive style and is positioned at the bottom right of the page.



A Eduardo, Blanca y Pepita,  
compañeros del alma.





Aprovecho esta ocasión para hacer publico mi agradecimiento al Profesor F.J.Mataix Verdu, Director del Departamento Interfacultativo de Fisiología Animal de la Universidad de Granada.

A los Profesores M.A.Lopez Rodriguez y A.Esteller Perez, Directores de la presente Memoria, con quienes he tenido el honor de trabajar durante los ultimos cinco años.

Al Profesor L.Diaz-Flores, al Dr.L.Megias Megias y a Eduardo C.Salido, por su inestimable ayuda en los estudios histologicos requeridos.

A los Doctores Martinez de Victoria y Lisboa y muy especialmente al Lcdo.J.A.Madrid por su desinteresada y siempre grata colaboración.

A mis amigos y compañeros de Departamento.

A todos y cada uno de ellos, muchas gracias.

GRANADA, Marzo de 1981.

===== INDICE =====



	<u>Pagina</u>
1.- OBJETO.....	1
2.-INFORMACION BIBLIOGRAFICA.....	5
2.1.- Morfologia y estructura del pancreas de pollo.....	6
2.2.-Secreción pancreática exocrina.....	7
2.3.-Control nervioso de la secreción pancreá- tica.....	12
2.3.1.-Nervios vagos.....	12
2.3.2.-Nervios esplácnicos.....	23
2.4.-Control hormonal de la secreción pancreá- tica.....	30
2.4.1.-Secretina.....	30
2.4.2.-Polipeptido Intestinal Vasoactivo.	34
2.4.3.-Pancreocimina-Colecistoquinina....	36
2.4.4.-Polipeptido Pancreatico.....	39
2.4.5.-Gastrina.....	40
2.5.-Respuesta a la comida.....	44
3.-METODO.....	47
3.1.-Diseño experimental.....	48
3.2.-Animales.....	49
3.3.-Procedimiento quirurgico.....	49
3.3.1.-Preoperatorio.....	49
3.3.2.-Operatorio.....	49
3.3.2.1.-Experimentos cronicos....	50
3.3.2.2.-Experimentos agudos.....	52
3.4.-Sistemas de estimulación y registro.....	53
3.5.-Control postmorten.....	54
3.6.-Tecnicas analiticas.....	59
3.6.1.-Contenido en proteinas totales....	59
3.6.2.-Actividad amilasica.....	59
3.6.3.-Determinación de la concentración de cloruros.....	59
3.6.4.-Determinación de Sodio y Potasio..	60



	<u>Pagina</u>
3.6.5.-Determinación de Bicarbonato.....	60
3.7.-Productos farmacologicos utilizados.....	60
3.8.-Tratamiento estadistico de los resultados.	61
4.-RESULTADOS.....	63
5.-DISCUSION.....	122
5.1.-Secreción de reposo.....	123
5.2.-Secreción espontanea.....	126
5.3.-Regulación nerviosa.....	130
5.3.1.-Regulación nerviosa parasimpatica.	131
5.3.2.-Regulación nerviosa simpatica.....	134
5.4.-Respuesta a la comida.....	137
6.-CONCLUSIONES.....	140
7.-BIBLIOGRAFIA.....	143





La información bibliográfica existente acerca de la secreción pancreática exocrina en mamíferos es muy amplia y se basa en resultados obtenidos en numerosas especies, con preparaciones experimentales y aproximaciones metodológicas diversas. Así hoy día se conocen la cuantía y composición del jugo pancreático segregado en condiciones de reposo y las variaciones que se producen en el flujo y en la concentración de sus componentes, tras la aplicación de estímulos fisiológicos.

Considerados en su conjunto los datos experimentales coinciden en apuntar hacia una profunda interacción de los factores hormonales y nerviosos, tanto en el mantenimiento de la secreción, como en su respuesta a estímulos diversos. No obstante y según la especie, el equilibrio se desplaza hacia uno u otro de los sistemas de regulación. Es imposible, por el momento, encontrar una relación clara entre la situación filogenética de las especies, sus peculiaridades alimentarias y las características distintivas de sus secreciones pancreáticas.

Es evidente, para nosotros, que esta dificultad se debe, entre otras causas, a las profundas especializaciones que ha sufrido el sistema nervioso vegetativo de los mamíferos, que actúa regulando de forma más o menos antagónica o más o menos sinérgica, no solo los distintos mecanismos que intervienen de forma directa en la secreción pancreática, sino también muchos otros fenómenos que de forma indirecta modifican dicha secreción digestiva.

Por otra parte, las hormonas gastrointestinales constituyen un grupo netamente separado del resto de las hormonas efectoras, acercándose más en su



origen y estructura a las hormonas reguladoras de la liberación de otros factores hormonales. Es decir, filogenéticamente su origen es más antiguo y todas ellas se sintetizan en células escasamente especializadas y profusamente distribuidas, que tienen una procedencia nerviosa común. No es pues extraño que su liberación se deba a fenómenos menos específicos, que su regulación esté peor definida y que sus actuaciones se solapen profundamente. Así, la regulación hormonal de la secreción pancreática enmascara los efectos nerviosos, contribuyendo en gran medida a complicar su comprensión.

Estas consideraciones teóricas generales nos llevaron a escoger el pollo como especie en la que estudiar la regulación de la secreción pancreática exocrina, con la idea de que, al pertenecer a un grupo menos evolucionado, la variedad de los factores nerviosos implicados sería menor, como de hecho se sabe que ocurre en otras funciones fisiológicas de esta especie.

En un principio los ensayos realizados para obtener preparaciones quirúrgicas que permitieron comenzar nuestro estudio, no alcanzaron la finalidad perseguida a consecuencia de ciertos problemas técnicos, que, por otra parte estaban descritos en la escasísima bibliografía existente. Una vez superados dichos problemas, los primeros datos experimentales nos indicaron que las hormonas gastrointestinales no tienen en el pollo un papel importante ni en el mantenimiento, ni en la regulación de la secreción pancreática exocrina, lo que por otra parte era positivo para nuestros fines y nos confirmaba que la especie elegida era idónea para el estudio de los factores nerviosos que controlan dicha secreción digestiva.



La presente memoria no constituye más que un primer intento para dilucidar el papel real que desempeñan las citadas influencias vegetativas. Así los resultados expuestos en esta tesis doctoral permiten delimitar algunos de los mecanismos colinérgicos y adrenérgicos que intervienen en la regulación de la secreción pancreática, así como minimizar la importancia de las influencias circulatorias sobre la misma. Por último nuestro trabajo abre una amplia gama de posibles líneas de investigación, que esperamos contribuyan en un futuro a la mejor comprensión de la regulación neuro-endocrina de las diferentes secreciones digestivas.

===== INFORMACION BIBLIOGRAFICA=====



## 2.1.- MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA DEL PANCREAS DEL POLLO

El pancreas de pollo es un órgano alargado y lobulado, que se localiza en el asa duodenal. Según la mayoría de los investigadores la glándula tiene tres lóbulos: dorsal, ventral y esplénico, si bien Takaki (203) mantiene la existencia de dos lóbulos, dorsal y ventral. Este último a su vez lo divide en anterior y posterior, que están algunas veces unidos. Del pancreas parten tres conductos, el conducto pancreático principal que se origina en el lóbulo ventral anterior, el conducto pancreático secundario que se origina en el lóbulo ventral posterior y el conducto pancreático terciario que se origina en el lóbulo dorsal (152). Los tres conductos desembocan en el duodeno por un orificio único que es difícilmente observable incluso con lupa por inspección de la mucosa duodenal (Fig.A, pag.55).

La independencia de cada uno de los lóbulos fue confirmada por Kokue y Hayama en 1972 (115), y la no existencia de conexiones entre los conductos por Heatley y col en 1965 (93).

El pancreas se divide en lóbulos y lobulillos, pero no son muy netos los septos interlobulilares, y en el pancreas de pollo hay poco tejido interlobulillar. Los lobulillos están compuestos de cortos túbulos o acinis como en los mamíferos.

El pancreas es irrigado con sangre arterial proveniente de la arteria pancreaticoduodenal. El drenaje se realiza por la vena pancreaticoduodenal que desemboca en la gastroduodenal y esta a su vez en la porta hepática. (198).

La inervación vegetativa ha sido investigada extensivamente en mamíferos, pero no en aves. No



obstante sabemos que el pancreas recibe fibras parasimpáticas vagales y simpáticas del nervio pancreaticoduodenal que deriva del plexo celíaco (222).

Recientemente se ha encontrado VIP utilizando métodos inmunohistoquímicos en nervios pancreáticos de todas las especies estudiadas, viéndose terminales nerviosas inmunoreactivas alrededor del estroma y acinos, y particularmente de forma densa en la pared de los conductos pancreáticos (201,121).

## 2.2.- SECRECION PANCREATICA EXOCRINA

La secreción pancreática puede clasificarse en basal o estimulada. En animales ayunados, la secreción basal es mantenida a un nivel indeterminado y varía desde pequeños a relativamente grandes volúmenes. La secreción basal es atribuible tanto a la secreción espontánea de la glándula como a bajos niveles de actividad de reguladores neurohormonales. La secreción estimulada lo es en respuesta a la ingestión de alimentos siendo finamente modulada por influencias neurales y hormonales (192).

La cuantía del flujo basal de jugo pancreático presenta enormes diferencias interespecíficas aun cuando se exprese en valores relativos al peso de la glándula. Así, entre los valores obtenidos por Alexander y Hickson (2) en el caballo (de 9 a 12 litros por día) y los encontrados por Lenninger y Ohlin (123) en gato que son prácticamente nulos, observamos toda una gama de valores que resumimos en el siguiente cuadro:



<u>ANIMAL</u>	<u>FLUJO BASAL</u>	<u>AUTOR(ES)</u>
Perro	60 $\mu$ l/min.	(171)
Rata	5 $\mu$ l/min.	(3)
Cerdo	0,39 $\mu$ l/min./g.gland.	(98)
Conejo	15,5 $\mu$ l/min.	(147)
Mandrill	61 $\mu$ l/min.	(217)
Oveja	18 $\mu$ l/min.	(232)

En pollos, Angelucci (5) encuentra flujos de 2  $\mu$ l/min. en animales anestesiados; Hulan (104) para animales crónicos da valores de 17  $\mu$ l/min. y Kokue (115) de 4,8  $\mu$ l/min.

Independientemente de los estímulos digestivos, la secreción exocrina del pancreas, presenta oscilaciones. Así Pfaff en 1897 describió un ritmo diurno en el flujo de jugo pancreático en el hombre (164), Grossman en 1958 en ratas con fístula pancreática crónica observa una mayor producción de jugo pancreático durante el día y Barrowman en 1970 comprueba que la existencia de un ritmo de secreción es independiente de estímulos gastrointestinales en ratas (13).

En glándula aislada o en preparaciones de tejido pancreático son muy pronunciados los altos niveles residuales de actividad secretora. La razón de la secreción basal en estas condiciones experimentales es desconocida, pero puede deberse a la ausencia de influencias reguladoras normales que tienen lugar en el animal intacto (119). Green y Lyman (74) encontraron que la supresión de jugo pancreático y de bilis del intestino producía un gran aumento en la secreción enzimática del pancreas, en tanto que, la infusión en el intestino de jugo pancreático y bilis anula el efecto anterior.

Además la respuesta a la comida es mas



grande en experimentos en los que el jugo pancreático es divertido fuera, usando una fístula pancreática, que en aquellos en los que el jugo pancreático secretado se re-ingresaba al intestino (6). El efecto inhibitor de las enzimas pancreáticas en el intestino sobre la secreción pancreática, no está aun explicado, aunque puede deberse a la interferencia con la liberación de hormonas intestinales por las enzimas pancreáticas. Los estudios acerca de la relación entre secreción pancreática y presencia de enzimas en el intestino podrían explicar, al menos en parte, el mantenimiento de la secreción bajo condiciones basales.

Otro factor que podría contribuir a este hecho, sería la presencia de bilis en el intestino. Se ha comunicado una marcada dependencia de la secreción pancreática del flujo biliar en animales y en hombre (65, 117, 228). Konturek ha llevado a cabo estos experimentos en perros con fístulas biliares, pancreáticas, e intestinales, en los que después de 3 a 5 horas de diversión de bilis fuera del intestino, se reingresaban bilis o sales biliares al mismo durante la secreción basal pancreática o estimulada. Dicha infusión en duodeno o yeyuno causó un marcado incremento del flujo de jugo pancreático, bicarbonato y proteínas (117).

Wormsley (228) sugirió que la acción estimuladora de las sales biliares sobre el pancreas, representa "otro mecanismo por donde las funciones del duodeno, pancreas y tracto biliar se integran a varios niveles fisiológicos".

Como sucede con otras secreciones digestivas, la secreción de jugo pancreático depende del tipo de estímulo aplicado. Una razón para ello es que la secreción pancreática exocrina presenta dos componentes dis-



tintos: a) Un líquido acuoso, que contiene electrolitos y una actividad enzimática muy débil y que constituye la mayor parte del volumen secretado por el pancreas y b) un líquido que lleva enzimas digestivas. Por consiguiente, el jugo pancreático representa una mezcla de estos dos componentes en proporciones variables.

a) Los principales cationes y aniones son:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{PO}_4\text{H}^-$ ; están en una concentración similar a la del plasma excepto por su mayor contenido en bicarbonato y menor en cloruros. Debido a estas altas concentraciones de bicarbonato, el jugo pancreático es un líquido alcalino cuyo pH oscila entre 7,6 y 8,2. Mientras la concentración de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{K}^+$  son independientes del flujo, en general la concentración de bicarbonato aumenta y la de cloruro disminuye a medida que se incrementa el volumen de jugo secretado (41).

La concentración de cationes varia ligeramente segun las especies:

Perro	$\text{Na}^+$	----154	mMol/l.	(10)
	$\text{K}^+$	----4,8	mMol/l.	
Conejo	$\text{Na}^+$	----155	mEq/l.	(128)
	$\text{K}^+$	----3,8	mEq/l.	
Oveja	$\text{Na}^+$	----147	$\mu\text{Mol/ml}$ .	(31)
	$\text{K}^+$	----4,6	$\mu\text{Mol/ml}$ .	

El Ca y el Mg están en concentraciones mas bajas que en el plasma (196).

En cuanto a los aniones:

Perro	$\text{HCO}_3^-$	----25-140	mEq/l.	(87)
Oveja	$\text{HCO}_3^-$	----28	$\mu\text{Mol/ml}$ .	(31)
	$\text{Cl}^-$	----123	$\mu\text{Mol/ml}$ .	

Hickson (98) encuentra en el cerdo que el  $\text{HCO}_3^-$  varia desde 10-20 hasta 130-160 mEq/l. y el  $\text{Cl}^-$  reciprocamente desde 130 hasta 18-24 mEq/l. independien-



temente de la naturaleza del estímulo que actúa sobre la secreción.

En el caballo (37) el cloruro es siempre predominante y el bicarbonato nunca sobrepasa el nivel de 60-70 mEq/l.

b) Los componentes enzimáticos del jugo pancreático tradicionalmente se han venido clasificando de acuerdo con la naturaleza del sustrato al que atacan. Así nos encontramos, con que en el jugo pancreático se ha detectado la presencia de enzimas proteolíticos, amilolíticos y lipolíticos.

Dentro de los enzimas proteolíticos hay que destacar las endopeptidasas tripsina, quimotripsina, elastasa y colagenasa. Las exopeptidasas carboxipeptidasas A y B y las nucleasas.

Dentro de los enzimas amilolíticos, la  $\alpha$ -amilasa.

Dentro de los lipolíticos, la lipasa, fosfolipasa A y B, colesterol esterasa y lipoprotein lipasa.

Tanto las proporciones como la presencia o no de algunas de estas enzimas, están sujetas a grandes variaciones entre distintas especies (178). Zieve y col (233) observan por ejemplo en el perro niveles superiores de lipasa y amilasa que en el hombre y en el conejo, siendo las concentraciones de enzimas en estas dos últimas especies bastante similares.



### 2.3.- CONTROL NERVIOSO DE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA

Las fibras nerviosas entran en el páncreas por dos vías: los nervios vagos y los nervios espláncnicos. El estudio del control nervioso de la secreción pancreática exocrina viene haciéndose desde hace tiempo siguiendo una metodología ya clásica, y no por ello menos usada en Fisiología, que consiste en observar las variaciones que se producen en el jugo pancreático tras corte de los nervios, estimulación de los mismos, identificación de los neurotransmisores y empleo de fármacos que mimeticen o impidan la acción adrenérgica o colinérgica.

#### 2.3.1.- NERVIOS VAGOS

El efecto vagal sobre el control de la secreción pancreática permanece mal definido desde hace cincuenta años. A pesar de los múltiples estudios realizados en animales los resultados siguen siendo contradictorios debido a la gran cantidad de variaciones inter e intra específicas detectadas (98,128,217,216).

La estimulación eléctrica del vago causa numerosos efectos en el páncreas; el principal es la extrusión de gránulos de zimogeno de las células acinares (189) y el incremento de la secreción de enzimas (98,216,217).

Segun Tiscornia (212) la respuesta pancreática exocrina a la estimulación vagal va a depender, en cada especie, del número de ganglios intrapancreáticos presentes. En gatos la respuesta en flujo de jugo pancreático a la estimulación es mínima o nula según



unos autores (30), en tanto que otros (124) afirman que se producen aumentos considerables de flujo, demostrando que dicha estimulación provoca una secreción de fluido y electrolitos superior al 20% de la máxima respuesta observada con secretina.

En el perro la estimulación eléctrica del cabo distal del vago derecho (109) aumenta la producción de proteínas y el volumen del jugo pancreático incluso después de la denervación del estómago.

La estimulación de los vagos en el cuello (129) o a nivel abdominal, provoca en conejos anestesiados un ligero incremento del flujo y un aumento claro en su contenido en amilasa (109,216).

En el caballo (37) la estimulación del vago en cuello o torax aumenta por lo menos cinco veces la secreción, pero contrariamente a otras especies la amilasa aumenta poco.

En algunas especies de primates la estimulación de los nervios vagos cervicales incrementa el flujo y el contenido en amilasa del jugo pancreático. Este es el caso de *P. mandrillus* y *E. patas* (217).

En el cerdo, la estimulación vagal da lugar a una copiosa secreción de jugo, rico en bicarbonato y enzimas incluso después de habersele extirpado estómago e intestino. Como en el gato, la atropina inhibe la respuesta secretora enzimática, pero no la secreción de bicarbonato, por lo cual, se ha sugerido que la persistencia de la secreción de bicarbonato después de la atropina indica la presencia de terminales colinérgicas específicas unidas a las células efectoras. Alternativamente se ha postulado que la respuesta podría ser media-



da por el Polipéptido Intestinal Vasoactivo (VIP) que es liberado en sangre durante la estimulación vagal del cerdo (99).

Guzmán (83) encuentra que los niveles del Polipéptido Intestinal Vasoactivo y Somatostatina aumentan en sangre tras la estimulación vagal en perro, lo cual sugiere que la respuesta pancreática inducida vagalmente es mediada tal vez, al menos de forma parcial por el VIP.

Son también bastante numerosos los estudios llevados a cabo mediante estimulación vagal indirecta con 2-Deoxi-D-glucosa (2DG). Dicha estimulación provoca un aumento en la secreción enzimática pancreática (57).

En perros, el efecto estimulante secundario a la inyección de Insulina o de 2-Deoxi-D-glucosa (182,200), se explica principalmente a través de la liberación de Gastrina, Secretina y Pancreocimina-Colecistoquinina. El 80% de estos efectos son suprimidos por la antrectomía. La respuesta a la 2DG es probable que no sea completamente vagal (44).

En el hombre, la secreción de enzimas pancreáticas se ve incrementada por la hipoglucemia (226), efecto que es suprimido por la vagotomía truncal, pero no por la vagotomía gástrica selectiva (42).

El efecto indirecto de los vagos sobre la secreción pancreática es tal vez mas importante que las acciones directas, en todas las especies estudiadas excepto en el cerdo. La actividad vagal promueve una fuerte secreción de ácido por el estómago especialmente



en el perro y sera este ácido el que evoque la secreción de jugo pancreático en parte por liberación de hormonas de la mucosa del intestino delgado (212).

Los estudios farmacológicos indican que el impulso vagal estimula la secreción de enzimas por liberación de acetil colina desde los nervios intrinsecos del pancreas. Estudios histológicos han confirmado que los acinos están inervados colinérgicamente (221).

Se han propuesto dos mecanismos de acción del vago sobre la secreción hidroelectrolítica del jugo pancreático: Una acción directa sobre las células secretoras y una acción sobre los vasos sanguíneos de la glándula, los cuales aportarían mayor cantidad de hormonas disponibles para las células secretoras.

El hecho de que el flujo sea relativamente resistente a la atropina y que la administración de agentes vasodilatadores pueda causar un aumento del mismo nos da una indicación de que el vago también estimula indirectamente la secreción pancreática por una acción vascular. Es posible pues (125) que el vago tenga ambos efectos y que esto sea un método para que los estímulos nerviosos y hormonales puedan potenciar el efecto del contrario.

Como ya expusimos anteriormente, parece ser que hay una correlación entre el número de ganglios presentes en una glándula exocrina y la respuesta a la estimulación vagal (212). De hecho las glándulas salivares contienen numerosos ganglios y responden rápidamente a una estimulación parasimpática. El hígado, por otra parte no contiene ganglios y no responde a una estimulación vagal (207,208).



La respuesta exocrina del pancreas en cada especie, parece depender del número de ganglios presentes en la glándula de esta especie (36,109,208). El pequeño número de ganglios presentes en el pancreas de perro se corresponde bien con la ausencia de estimulación de la secreción pancreática por excitación vagal (208). Las experiencias de Hickson (98) y de Magee y White (133) en el cerdo muestran no obstante unos resultados diferentes.

Hickson (98) utilizando métodos de coloración con tiocolina encuentra que el pancreas de cerdo presenta numerosas estructuras que contienen acetilcolinesterasa, que parecen pequeños ganglios compactos con sus ramificaciones nerviosas asociadas. Comline y col. (36) encuentran que estas estructuras son raras o están ausentes en el gato, perro y cordero, estando presentes en asno y caballo.

En muchos de los estudios que se han hecho sobre las consecuencias de la estimulación del nervio vago se ha observado un retardo inicial ante dicha estimulación, retardo que se trata de explicar por la presencia de fibras inhibitoras y por la contracción que puedan sufrir los conductos pancreáticos ante dicha excitación (7,124).

En este contexto, recordemos que los vagos están compuestos predominantemente por fibras amielínicas (63). En el conejo, a la entrada en el abdomen, los vagos contienen unas 26000 fibras no mielínicas de las que un 10% son eferentes (61). Dichas fibras eferentes parecen ser inhibitoras de la secreción pancreática (38).

La presencia de fibras inhibitoras en



el vago fué demostrada por Pavlov (157) y Popielski (168) que observaron que la estimulación del cabo periférico del vago podía inhibir la actividad secretora pancreática inducida por la presencia de ácido clorhídrico en el intestino. Según este último autor, ciertas ramas del vago en el tórax y abdomen son puramente inhibitoras, en tanto que otras lo son excitadoras. Von Anrep (7) ha demostrado que todas las ramas contienen los dos tipos de fibras. Según él, durante la fase inhibitora se está secretando jugo pancreático, pero que es retenido en la glándula gracias a la contracción de los conductos. Por otro lado, y en contra de la hipótesis anterior que fue confirmada también por Korovitsky (120), Thomas (208) mantiene que es imposible confirmar los efectos inhibitorios de la estimulación vagal, y sugiere que la contracción de los músculos del duodeno podría interferir, en ciertas condiciones, con la libre evacuación del jugo pancreático.

Según la mayoría de los autores, la vagotomía y los agentes parasimpaticolíticos reducen la secreción de enzimas en respuesta a la comida o a factores secretagogos, si bien no faltan quienes digan todo lo contrario. Puede que, como afirma Lenninger, las diferencias dependan del nivel basal de secreción previo a dichas maniobras (125).

Thambugala (206) encuentra que, tras vagotomía truncal, el fluido, el bicarbonato y la secreción de enzimas, estimulados por la comida se ven reducidos marcadamente. Esta reducción puede atribuirse a la disminución de la liberación de hormonas estimulantes de la secreción pancreática o a la disminución del tono colinérgico en los sitios de liberación de hormonas en la





mucosa intestinal.

La vagotomía no afecta la secreción pancreática de bicarbonato o amilasa en respuesta a una dosis fija de secretina exógena en el hombre. Sin embargo, la respuesta de volumen, bicarbonato y amilasa a la hipoglucemia insulínica si son abolidas por la vagotomía.

Konturek (118) encuentra que la vagotomía causa una reducción, estadísticamente significativa, en la producción de proteínas pancreáticas después de la estimulación con pancreocimina exógena, disminuye significativamente la secreción pancreática de bicarbonato y reduce muy significativamente la secreción postprandial de proteínas y bicarbonato.

En el perro, la vagotomía truncal o extragástrica tiene un pequeño o nulo efecto sobre la respuesta secretora a la secretina, pancreocimina y a la perfusión duodenal con clorhídrico (44,211). La respuesta a perfusiones intraduodenales de aminoácidos y oleato se ve fuertemente deprimida así como la secreción basal (44).

El hecho de que el 90% de las fibras vagales sean aferentes da ya una idea de la importancia fundamental de la influencia que los reflejos tienen sobre el páncreas. Ya Pavlov (158) en su trabajo sobre la regulación nerviosa de la digestión, establecía la importancia de las fibras nerviosas vagales destinadas a las vísceras abdominales. Esta acción la concebía como un reflejo con un centro secretorio situado en el tronco cerebral, excitado en una primera fase de la digestión por los impulsos nerviosos provenientes de las terminaciones nerviosas cefálicas, seguidas en una fase ulte-



rior por un influjo de impulsos transmitidos por las fibras viscerales aferentes del vago abdominal y de los esplácnicos. En este contexto, Harper y col. (86) han estimulado el cabo central del vago abdominal en el gato y encuentran una secreción refleja de ácido y de pepsina en el estómago y de amilasa en el pancreas. Los mismos efectos se han obtenido por la estimulación de fibras eferentes de los nervios vagos abdominales.

La distensión del cuerpo del estómago normalmente inervado provoca un aumento del flujo de jugo pancreático y de su contenido proteico (20). Debas (46) ha puesto en evidencia un mecanismo reflejo piloro-pancreático en la secreción pancreática que es colinérgico y que requiere vías vagales largas intactas, manteniendo al tiempo que, el reflejo descrito por White (224) debe denominarse oxinto-pancreático. Este último autor afirma que con el fin de abolir el reflejo provocado por la distensión del cuerpo del estómago es necesario cortar los nervios vagos y esplácnicos.

Tanto Popielski (169) como Thomas (208) insisten acerca de la posibilidad de la existencia de arcos reflejos duodeno-pancreático que contribuyen al tono colinérgico de la glándula. En el perro, utilizando anestésicos bloqueantes de la mucosa duodenal, principalmente en la región de la papila pancreática, Thambugala y Baron (206) han demostrado la contribución de los arcos reflejos cortos, medios o largos en el control colinérgico del pancreón. En un estudio anatómico Tiscornia ha indicado que la vía probable de estos arcos reflejos es el plexo gastroduodenal en el hombre y la red pancreático-duodenal en el perro (212).

Se puede decir que los arcos reflejos cor-



tos duodeno-pancreáticos y eventualmente gastro-pancreáticos están continuamente sometidos a un control por parte de impulsos colinérgicos a través de las fibras eferentes del vago. Esto podría explicar las modificaciones de la respuesta del pancreón a la estimulación hormonal en los diferentes periodos que siguen a la sección del vago. Efectivamente se ha demostrado en perro (206) que en el primer mes que sigue a la vagotomía, la respuesta provocada por la secretina está disminuida, y después regresa a los valores normales e incluso sobrepasa el valor inicial.

Esto parece indicar que después de un periodo de depresión subsiguiente a la interrupción de las conexiones con los centros superiores, los ganglios intrapancreáticos y los reflejos nerviosos periféricos son capaces de restablecer un tono colinérgico en la glándula pancreática. Según estos mismos autores (206) el aumento de la respuesta de la glándula pancreática a la secretina, a la pancreocimina y a ambas juntas se debería a una hipersensibilidad de las células receptoras después de la denervación o bien a una hiperactividad de los arcos reflejos periféricos liberados del control restrictivo de los centros superiores.

Para explicar las modificaciones de la respuesta secretora pancreática a la estimulación con pancreocimina es necesario tomar en consideración que esta hormona, así como la gastrina, puede ejercer una parte de sus efectos a través de la activación de los receptores muscarínicos de las células ganglionares secretoras que liberan acetil colina a nivel de las terminaciones postganglionares (172). La interrupción de estos impulsos preganglionares por la vagotomía liberaría un circuito muscarínico de transmisión de los efectos ex-



citadores colinérgicos a través de los ganglios intrapancreáticos (213).

Se ha comprobado que la acetil colina incrementa la secreción de enzimas en todas las especies estudiadas, pero induce acciones diferentes sobre la secreción hidroelectrolítica en diferentes animales: en cerdo, rata y conejo contrariamente a lo que ocurre en gato, perro y hombre la secreción pancreática de agua y bicarbonato se ve incrementada por la acetil colina a un nivel de 2 a 4 veces superior a la secreción basal o aproximadamente al 30% de la secreción obtenida en rata con dosis máximas de secretina (47,101).

En el gato, una rápida inyección intravenosa de acetil colina es responsable de una secreción enzimática asociada con un primer pico de aumento en la conductancia eléctrica a través de la glándula, apareciendo también un segundo pico de conductancia que probablemente responda a una vasodilatación (76).

La respuesta secretora proteínica de todos los tipos de preparaciones a la acetil colina o derivados, es bloqueada por la atropina, pero no por la nicotina, lo cual prueba que los receptores son muscarínicos (225).

En el cerdo (98) y otras especies entre las cuales está el conejo (128), se ha demostrado que la administración de acetil colina mimetiza exactamente la acción de la estimulación vagal. Lo mismo ocurre con los análogos sintéticos de la acetil colina, la pilocarpina y la fisostigmina (128). También se ha visto que la acetil colina excita los receptores colinérgicos de las células alfa y beta, efecto que es abolido por la atropina (4).



Takaki (203) encuentra que la acetil colina ensayada sobre conducto pancreático en pollo produce contracciones rítmicas en ausencia de motilidad espontánea en el conducto aislado, efecto que también es abolido por atropina.

En cerdo anestesiado la acetil colina inyectada en la arteria celiaca produce un abundante flujo de jugo pancreático de alto contenido en bicarbonato y amilasa. La persistencia de dicho efecto tras extirpación de estómago e intestino sugiere que ni la gastrina ni otras hormonas gastrointestinales están involucradas en la respuesta (98).

La acetil colina despolariza las células acinares del pancreas de ratón (43) y ello se debe a la entrada de sodio y calcio a las células, entrada que va seguida de una disminución de la resistencia de la membrana en presencia de agonistas (163), estimulando también la liberación de calcio de los depósitos intracelulares (32). Se supone que el aumento en la concentración de calcio promueve una interacción entre los gránulos de zimógeno y la membrana celular, produciéndose una extrusión de enzimas desde la célula.

El principal agente parasimpaticolítico utilizado en los estudios del control nervioso de la secreción pancreática exocrina ha sido la atropina. En pancreas de paloma in vitro, la atropina inhibe la secreción pancreática. Este efecto se observa a bajas concentraciones en tanto que a altas se produce una inhibición de la síntesis de proteínas (146).

En perros no anestesiados la atropina disminuye el flujo de jugo pancreático y la producción de bicarbonato en respuesta a una administración exóge-



na o liberación endógena de secretina (54). Causa además una marcada y prolongada disminución en el flujo y en la producción de bicarbonato y proteínas en respuesta a una liberación endógena de pancreocimina de la mucosa intestinal. También inhibe la respuesta a pequeñas dosis de pancreocimina exógena, pero no afecta a la respuesta a grandes dosis de la misma (116).

Pequeñas dosis de atropina son efectivas bloqueando la liberación de secretina de la mucosa. Sin embargo, cuando se trata de secretina circulante, por ejemplo, por administración exógena, son necesarias grandes dosis de atropina para bloquear el efecto a nivel celular (187). Ni la vasodilatación secundaria, descrita algunas veces, a la estimulación de los vagos (76), ni la respuesta secretora a la hipoglucemia (226) ni a la 2-Deoxy-D-glucosa (44) son suprimidas por la atropina, lo cual confirma la existencia de fibras atropin resistentes en el nervio vago.

Los bloqueantes ganglionares tienen un efecto similar a la atropina (211). En el pollo el hexametonio bloquea completamente los efectos provocados por la acetil colina y la estimulación vagal sobre el conducto pancreático (203).

### 2.3.2.- NERVIOS ESPLACNICOS

Los nervios esplácnicos se han venido considerando como inhibidores de la secreción pancreática exocrina. Esta noción deriva de las experiencias de esplacnicestomía.

Las modificaciones de la secreción pan-



creática observadas después de la sección de los nervios esplácnicos son: el volumen y el contenido enzimático de la secreción basal y estimulada se ven aumentados (207, 208). Parece ser que una excepción a esta respuesta se da en el conejo, en el que Baxter (16) ha encontrado que la sección de los nervios esplácnicos disminuye de forma permanente el contenido enzimático de jugo pancreático. Por el contrario López en nuestro Departamento (128) encuentra en esta misma especie que dicha maniobra aumenta claramente la secreción pancreática sin observarse efectos manifiestos sobre su contenido enzimático indicando que estos resultados son debidos total o parcialmente a la vasodilatación consiguiente. Shinglenton (191) también ha encontrado funciones pancreáticas esencialmente normales en cinco pacientes después de haberles realizado una simpatectomía transtorácica.

En el gato (85) la esplacnicestomía aumenta la respuesta a la secretina. Sin embargo no ocurre lo mismo en el perro (91). Además el efecto inhibitor de los esplácnicos también se ejerce sobre el páncreas endocrino, y así tras el corte de los esplácnicos aumenta la liberación de insulina en páncreas aislado (144).

La mayor parte de las experiencias de estimulación del cabo periférico de los nervios esplácnicos confirman los resultados arriba indicados. La estimulación esplácnica disminuye la secreción pancreática exocrina (85). Empleando páncreas aislado perfundido de gato, se ha observado que esta respuesta es bifásica: en un primer tiempo se observa una intensa vasoconstricción con disminución de la respuesta hidroelectrolítica a la secretina; posteriormente se produce una vasodilatación que puede sobrepasar el nivel basal de flujo sanguíneo y que se ve acompañada de un retorno al



flujo basal de secreción (12).

El mecanismo del efecto inhibidor de los espláncnicos podría deberse a la disminución del flujo sanguíneo. De hecho se admite, que toda variación vasomotriz en el pancreas va seguida de variaciones en la secreción pancreática exocrina en el mismo sentido (155).

Además se ha comprobado (12), que la respuesta vasoconstrictora, inhibida por la fenoxibenzamina, se debe a la estimulación de los receptores alfa-adrenérgicos presentes en la pared vascular, mientras que la respuesta vasodilatadora, inhibida por el propranolol se debe a la estimulación de los receptores beta-adrenérgicos. Ahora bien, la fenoxibenzamina, que impide la vasoconstricción, no abole la disminución de la secreción observada durante la estimulación esplácnica, por lo que esta debe ejercer además de un efecto vasomotor, un efecto inhibidor de la secreción independiente de los receptores alfa-adrenérgicos (12). Esta experiencia puede ser criticada sobre el hecho de que la propia fenoxibenzamina puede mostrar tener propiedades inhibitoras de la secreción pancreática exocrina (78).

No hemos encontrado trabajos sobre la influencia de la estimulación crónica de los nervios espláncnicos sobre la secreción pancreática.

Lo que si se ha demostrado es que en algunas circunstancias los nervios espláncnicos poseen una acción secretora de tipo vagal. No hay duda de que en perro y gato, los nervios espláncnicos aportan al pancreas exocrino y endocrino fibras colinérgicas que son similares en tipo y función a las de los nervios vagos (12,16, 207). Estas fibras están presentes por debajo del diafrag-



ma. Se ha demostrado efectivamente que la estimulación de los nervios esplácnicos muy por encima del tórax produce un efecto similar al conseguido con estimulación más baja (9,207,208).

En el gato, una estimulación esplácnica corta va seguida de un aumento en la producción de amilasa (12). La estimulación esplácnica efectuada cinco o seis días después de la esplacnicestomía o bien de una forma suficientemente prolongada para agotar el efecto vasoconstrictor provoca una secreción pancreática rica en enzimas, produciéndose igualmente una deplección de los gránulos de zimógeno (9).

Esta respuesta no está relacionada con la activación de los mecanismos adrenérgicos, puesto que no es reproducible por la administración de adrenalina (11), ni es inhibida por la fenoxibenzamina (12). Este efecto muy probablemente se deba a la estimulación de las fibras colinérgicas presentes en los esplácnicos, porque se ha comprobado que es abolido por la atropina (9,12), y se acompaña de una liberación de acetil colina en sangre (9).

El volumen de jugo pancreático secretado bajo estas condiciones experimentales es menor que el obtenido con una estimulación similar de los nervios vagos. Cualitativamente, sin embargo, la secreción pancreática provocada por la estimulación de los nervios esplácnicos no difiere de la producida por la estimulación vagal. De igual forma, las modificaciones morfológicas que ocurren en el tejido acinar son semejantes. El examen histológico revela que en los dos casos, hay una deplección considerable de los gránulos de zimógeno (207,208).



Los estudios llevados a cabo con catecolaminas han demostrado que tanto la noradrenalina como adrenalina ejercen un efecto inhibitor sobre la secreción pancreática exocrina basal y estimulada (9,160,181, 189). En el hombre, después de la estimulación por secretina o insulina, la noradrenalina también ejerce un efecto inhibitor sobre el flujo de jugo pancreático, la producción de enzimas y amilasa (165).

Las acciones de las catecolaminas son difíciles de estudiar in vivo, puesto que, poseen acciones susceptibles de modificar de una forma indirecta la respuesta secretora exocrina del páncreas: poseen efectos metabólicos, hormonales (122) y hemodinámicos. (202). Se sabe que los vasos espláncnicos y en particular los pancreáticos poseen receptores alfa y beta adrenérgicos susceptibles de ser inhibidos respectivamente por la fenoxibenzamina (que suprime la vasocronstricción inducida por la noradrenalina e invierte la vasoconstricción debida a la adrenalina en vasodilatación) y el propranolol (que suprime la vasodilatación inducida por el isoproterenol) (154,202).

En preparaciones in vitro de páncreas de ratón (12) la noradrenalina no modifica la secreción pancreática, mientras que en idénticas preparaciones de conejo la inhibe (102). Esta inhibición es abolida por la fenoxibenzamina y no por el propranolol debiendo por tanto estar ligada a la acción de la noradrenalina sobre los receptores alfa-adrenérgicos. En el gato, (11) también se ha visto que la adrenalina y la noradrenalina ejercen un efecto inhibitor sobre la secreción hidroelectrolítica y protéica del páncreas, pero en este caso el efecto inhibitor no está ligado a un mecanismo



alfa-adrenérgico ni hemodinámico.

La hipótesis de una activación de la secreción pancreática por estimulación de los receptores beta-adrenérgicos, se basa en datos muy contradictorios: Hay autores que dicen que la estimulación de dichos receptores aumenta la secreción pancreática (55, 199), otros que la inhibe (160) y otros, que no hace nada, (173,181).

El efecto estimulante de la fentolamina en la rata (183) y del isoproterenol sobre el pancreas aislado de gato (159) es inhibido por el propranolol, pero también por la atropina. Se ha sugerido que en ciertas ocasiones, los agonistas adrenérgicos pudieran ejercer efectos colinérgicos.

Por último el efecto estimulante ejercido por la noradrenalina sobre el pancreas aislado de perro, en el que los receptores alfa-adrenérgicos están bloqueados por fenoxibenzamina es inhibido por el haloperidol, bloqueante específico de los receptores dopaminérgicos. Esto indica que la noradrenalina es susceptible de ejercer un débil efecto dopaminérgico sobre el pancreas (15).

Se ha visto que la dopamina existe en abundancia en el tracto digestivo, si bien, su acción ha sido relativamente poco estudiada sobre este aparato. Se sabe no obstante que aumenta la producción de bicarbonato en la bilis sin modificar la secreción de sales biliares (88) y que relaja la musculatura intestinal (95).

Greengard y col. (75), demostraron que entre las catecolaminas solo la dopamina ejerce sobre el pancreas exocrino un efecto estimulante, comportándose como "un potente extracto de secretina".



Según algunos investigadores (66,90), la dopamina administrada intraarterialmente estimula en preparaciones de pancreas aislado y perfundido de perro la secreción hidroelectrolítica, pero no la secreción de proteínas. Este efecto es reproducible por la L-dopa, pero el efecto de esta es abolido por un inhibidor de la dopa-descarboxilasa. Por el contrario, el efecto de la dopamina es reforzado por el ácido fucsárico (que inhibe a la dopamina-beta-hidroxilasa) y la nialamida (inhibidor de la monoamino-oxidasa), productos que retardan el catabolismo de la dopamina. Es por tanto ésta y no los catabolitos la que actúa (67).

Por otra parte, sobre el mismo modelo experimental, la noradrenalina es inhibidora (204) y el pretratamiento con reserpina no tiene efecto (69). Otros trabajos (15) han mostrado que la estimulación de la secreción hidroelectrolítica por la dopamina esta ligada a la dosis empleada y que esta droga no moviliza los gránulos de zimógeno de las células acinares.

Se sabe que la dopamina es muy activa sobre la vasomotricidad, particularmente sobre la renal (73,180). A determinadas dosis dilata los vasos renales y aumenta el flujo sanguíneo, siendo vasoconstrictora a dosis mayores (73). El primer efecto es dopaminérgico y el segundo alfa-adrenérgico. En las experiencias citadas anteriormente (66,90), la dopamina ejerce un efecto vasoconstrictor sobre la vascularización pancreática. El efecto secretor se ejerce pues a pesar de un efecto vasomotor verosimilmente alfa-adrenérgico. Esto podría explicar el acrecentamiento del efecto secretor de la dopamina por la cocaína (68).



## 2.4.- CONTROL HORMONAL DE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA

Recogemos bajo este apartado la información existente acerca de aquellos factores endocrinos cuya importancia fisiológica, en la regulación de la secreción que nos ocupa, está suficientemente probada y que además están relacionados con los mecanismos de regulación nerviosa de la secreción pancreática exocrina.

### 2.4.1.- SECRETINA

En 1966 Mutt y Jorpes (149) describieron la secuencia aminoacídica de la secretina y en el mismo año Bodansky y col. (22) sintetizaron dicha hormona. Está compuesta de 27 aminoácidos, 14 de los cuales ocupan la misma posición tanto en la secretina como en el glucagón (79). Se trata de una molécula fuertemente básica en la que los aminoácidos comprendidos entre la posición 5 y 13 forman una hélice (24) que posiblemente sea necesaria para la actividad biológica completa de la hormona (82).

La concentración de secretina en la mucosa intestinal disminuye progresivamente desde el duodeno al ileon en perro, gato, cerdo y cabra (17,140). La cantidad de secretina liberada durante la infusión ácida de segmentos aislados de intestino, es en parte función de la longitud del mismo expuesta a la acidificación (141).

Son los hidrogeniones presentes en el duodeno el estímulo fundamental para la liberación de secretina, no habiendo acuerdo entre diversos autores acerca del pH umbral que oscila entre 2 y 4 (62,210).



Algunos investigadores sostienen que por debajo de un cierto pH, la liberación de secretina se mantiene estable (141), mientras que para otros aumenta a medida que disminuye el pH (62).

Los estudios concernientes a la liberación de secretina en respuesta a la comida, llevados a cabo empleando radioinmunoensayo son variables y en gran manera contradictorios. Así, Young (231) y Kim (111) mantienen que hay un incremento estadísticamente significativo en la secretina sérica en el hombre tras la ingestión de 50g. de glucosa. Por el contrario Chey (35) y Boden (26) afirman no encontrar cambio alguno. En términos de conjunto, y si hacemos caso de lo encontrado en la bibliografía, parece ser que es improbable que la secretina juegue en la respuesta fisiológica a la comida el papel que, originariamente, le atribuyeron Bayliss y Starling (17).

La acción primaria de la secretina es la de estimular la secreción pancreática de agua y bicarbonato (103), además de ejercer otros efectos como son el inhibir la motilidad y el vaciamiento gástrico, la motilidad intestinal, y la ruminal; inhibe la absorción de agua y sodio por la mucosa intestinal y tiene un ligero efecto vasodilatador, al menos en el área vascular esplácnica (130). Beijer (18) encuentra que la secretina aumenta preferentemente el flujo de sangre en las arterias pancreaticoduodenales atribuyendo dicho aumento a la disminución de la resistencia vascular de dichos vasos.

El efecto positivo de la secretina sobre la fracción hidroelectrolítica del jugo pancreático es común a todas las especies de mamíferos estudiadas;



siempre hay, en respuesta a la administración de secretina exógena, un aumento del flujo de jugo pancreático y de su concentración en bicarbonato con una consecuente disminución de la concentración de cloruros. En la mayoría de las especies el cloruro es el anion predominante en la secreción basal y cede su puesto al bicarbonato cuando el flujo está incrementado por acción de la secretina; sin embargo en el caballo (2) y en algunos primates (217) la concentración de bicarbonato supera a la de cloruro para todos los valores de flujo.

En contra de lo expuesto hasta aquí Mangos y col. (136) encuentran que la secretina en la rata aumenta al mismo tiempo el flujo de jugo pancreático y la secreción de cloruro, en tanto que disminuye la secreción de bicarbonato. Es posible que estos resultados no sean demostrativos de una situación fisiológica real por cuanto, tal y como indican Sewel y Young (190), estas experiencias se hicieron sin estar previamente ayudadas las ratas, sin haber practicado una ligadura del píloro y utilizando secretina posiblemente contaminada.

Otro punto de discordia entre los investigadores es la posibilidad de que la secretina estimule la secreción de proteínas por el pancreas. En pancreas de perro perfundido Stok y col. (197) han demostrado que secretina sintética (y por tanto pura) es capaz de estimular la secreción protéica. En perros provistos de una fístula pancreática crónica, la secretina aumenta en un 40-60% la secreción de proteínas (97). En ratas, unos autores dicen que la secretina pura no tiene efectos sobre las proteínas (188) y otros que sí. (110).



Parece ser que el efecto de la secretina se ejerce a nivel de los conductos intercalares de la glándula; así en animales sometidos a dietas carentes de cobre y suplementadas con penicilamina, en los que se origina una degeneración de las células acinares permaneciendo intactas las ductulares, la secretina sigue siendo eficaz estímulo de la secreción hidromineral.

En cuanto al mecanismo de acción de esta hormona, se ha postulado que en el mismo está implicado el AMP-c, puesto que la secretina causa un aumento dependiente de la dosis en el contenido de aquel en el tejido glandular y en el jugo pancreático (179).

Además de las diferencias apuntadas anteriormente, también hay otras y muy marcadas, entre distintas especies, en lo que se refiere a la sensibilidad de sus pancreas exocrinos a dicha hormona. En contraste con los resultados clásicos obtenidos en carnívoros, sobre todo en perro y gato, estudios posteriores han puesto de manifiesto que son mucho más sensibles otras especies como el conejo (147), algunos primates (217), cerdo (98) y caballo (2).

En pollos, la secretina porcina no estimula la secreción pancreática (5); ante este hecho comprobado por nosotros mismos en nuestro Departamento, Dockray (51) afirma que pueden ser dos las explicaciones: la una, que existan diferencias entre la secretina de aves y mamíferos, y la otra, que las aves no tengan el mecanismo de la secretina para la regulación de la secreción pancreática y que los factores análogos de secretina del intestino de aves no tengan un papel fisiológico. Cabe también la posibilidad de que en aves sea el polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) el mensajero



químico responsable de la estimulación de la secreción pancreática de bicarbonato (130), lo cual no sería de extrañar si como mantienen algunos autores el VIP es un agonista parcial de la secretina (53) e incluso se han descrito fenómenos de inhibición competitiva entre ambas sustancias y además el VIP aumenta el AMP-c (179).

En cuanto a su catabolismo Chey y col. demostraron que la secretina sintética era rápidamente inactivada en el hígado (34). Parece ser que la vida media de la secretina en perros es de 2,5 minutos (175). Una pequeña parte de la hormona circulante es además removida durante el tránsito renal (39). Estos breves tiempos hacen que la respuesta pancreática a una inyección simple de secretina sean muy cortos.

#### 2.4.2.- POLIPEPTIDO INTESTINAL VASOACTIVO (VIP)

Este polipéptido fué aislado por Said y Mutt (184) en el intestino de cerdo. Contiene 28 aminoácidos y está químicamente emparentado con la secretina (192). Su composición aminoacídica ha sido determinada (135) y el compuesto ha sido sintetizado (23). También se ha sugerido que una porción del polipéptido tiene una configuración helicoidal como la secretina (25).

Solcia y col. (194) encontraron con estudios inmunohistoquímicos que el VIP está presente y ampliamente distribuido en el intestino de mamíferos y aves. La mayor concentración de células inmunoreactivas se encuentra en el intestino delgado (166).



El polipéptido es menos efectivo que la secretina, estimulando la secreción pancreática en gatos (184), comenzando la secreción de jugo pancreático a los cinco minutos de haberlo inyectado (134,184). Cuando se administra junto con pancreocimina también aumenta el flujo de jugo pancreático (135).

La infusión de VIP en perros provoca una inmediata reducción de la concentración y producción de proteínas, así como del volumen de jugo pancreático secretado. También suprime la producción de amilasa y tripsina. Por otro lado, en pancreas humano el VIP evoca una respuesta secretora análoga a la de la secretina, pero menos potente (53).

Experiencias realizadas por Konturek y Dockray (49) en gatos y pavos demuestran que el polipeptido intestinal vasoactivo es un agonista total de la secretina, siendo la respuesta secretora de bicarbonato cuantitativamente igual a la ocasionada por la secretina. Si bien estos resultados sugieren que la secretina y el VIP actúan sobre células pancreáticas secretoras de bicarbonato por activación de los mismos receptores, el análisis de estos en preparaciones de células acinares aisladas ha mostrado que los receptores con gran afinidad por la secretina y por VIP son diferentes, además de las acciones mencionadas, el polipéptido intestinal vasoactivo es capaz de estimular la liberación de insulina y glucagón por el pancreas (105). Se ha postulado que el VIP estimula la adenilatociclasa con lo cual provoca un aumento del AMP-c (179).

Dimaline (48) encontró que el VIP de pollo es más potente que el de cerdo y entre 100 y 150



veces mas potente que la secretina porcina en la estimulación del pancreas de pavo.

La liberación de VIP desde el intestino empieza a ser bastante estudiada y por ahora sabemos que en cerdo, la estimulación eléctrica de los vagos provoca su liberación (186). En perros la administración intraduodenal de solución salina hipertónica, fenilalanina y HCl 0,16 N también son estímulos efectivos en su liberación (56).

El significado fisiológico del VIP no está del todo claro, si bien Said (185) ha sugerido las siguientes hipótesis: a) El VIP puede servir como neurotransmisor o neuromodulador, tanto en el sistema nervioso central como en el sistema nervioso parasimpático. b) El polipéptido puede mediar vasodilatación en varios lechos vasculares incluyendo la circulación esplácnica. c) El VIP puede participar en la regulación del tono motor gastrointestinal.

#### 2.4.3.- PANCREOCIMINA-COLECISTOQUININA (PZ-CCK)

Esta hormona existe en la naturaleza en dos formas, una que contiene 33 aminoácidos y otra 39, teniendo ambas igual potencia a la hora de estimular la secreción pancreática de proteínas.(45).

Se aisló de extractos de duodeno de cerdo y está generalmente confinada en la mucosa del intestino delgado proximal. Reeder y col.(176) usando radioinmunoensayo midieron altas concentraciones de PZ-CCK en duodeno y yeyuno de ratas.



Bloom y Bryant (21) encontraron en ratas y perros concentraciones máximas en yeyuno y cantidades considerables en duodeno e ileon. Fue Polak quien identificó las células que contienen la hormona en la mucosa intestinal (167).

La pancreocimina es un poderoso estimulante de la secreción enzimática pancreática (195), además de aumentar la secreción de bicarbonato (150) e insulina (225) y de estimular la motilidad intestinal (94), el flujo de sangre en la arteria mesentérica superior (28), disminuir la presión arterial sistémica (170) y poseer efectos tróficos sobre el páncreas (14). También inhibe la absorción de fluido, sodio, potasio y cloruros en yeyuno e ileon (108).

El mecanismo de acción de la PZ-CCK a nivel celular ha sido estudiado extensivamente. El paso inicial en el mecanismo es la movilización y liberación de calcio celular intercambiable. Esta liberación va seguida por un incremento en el GMP-c celular, que mediante una serie de pasos aun no muy bien definidos incrementa la secreción enzimática. El calcio extracelular no parece estar implicado en el mecanismo de secreción per sé, pero parece necesario para la obtención de niveles óptimos de exocitosis (72).

La hormona se libera por la presencia en el intestino de isómeros L de aminoácidos, ácidos grasos, ácido clorhídrico y comida (143). La perfusión del duodeno con una mezcla de aminoácidos da lugar a un aumento de la secreción de enzimas pancreáticas en el hombre, siendo muy activas la fenilalanina, valina y metionina y menos el triptofano (71). Meyer y Grossman (142) han demostrado que la fenilalanina y el triptofano



son muy efectivos, activando la secreción enzimática en perros; la valina y leucina son menos efectivos y la metionina no tiene estos efectos. La perfusión del yeyuno con una mezcla de aminoácidos provoca la liberación de PZ-CCK endógena, que es efectiva estimulando la secreción pancreática de enzimas y el volumen de jugo secretado (58,59).

Los trabajos de Moreland y Johnson (145) indican que la producción de proteínas pancreáticas en respuesta a altos niveles de infusión ácida del duodeno era mas grande que la producción conseguida con secretina, sugiriendo que los ácidos liberan pequeñas cantidades de pancreocimina.

Los niveles circulantes de PZ-CCK se han medido por radioinmunoensayo en hombres antes y después de la comida. Harvey y col. (89) encontraron que en sujetos normales y tras ingestión de leche, los niveles de la hormona aumentan significativamente.

En cuanto a su catabolismo los mismos autores (89), midiendo PZ-CCK endógena por medio de radioinmunoensayo, afirman que el tiempo que tarda en desaparecer la hormona varía de 5 a 7 minutos. En perros (174) la vida media es de 2,6 minutos. El tránsito de la hormona también se ha estudiado a nivel renal mediante radioinmunoanálisis por detección de los niveles de la misma en arteria y vena renal (209), llegándose a la conclusión de que existe un rápido mecanismo catabólico en el riñón de la mencionada hormona.



#### 2.4.4.-- POLYPEPTIDO PANCREATICO

El descubrimiento del polipéptido pancreático aviar (APP) fue un hecho accidental durante el aislamiento de insulina del pancreas de pollo;(112) posteriormente se aisló y determinó la secuencia del polipéptido pancreático bovino, ovino, porcino y humano (126,127).

Por lo que se refiere al polipéptido pancreático aviar que es el que mas nos interesa, sus niveles en sangre se han medido por radioinmunoanálisis (113). Una comida normal da lugar, en pollos, a una continua y rápida elevación del mismo en plasma. La distensión mecánica del buche no modifica los niveles de APP ni tampoco se han demostrado cambios en los mismos por la inyección intravenosa de glucosa.

El sistema venoso parasimpático debe estar involucrado en el control de su liberación ya que la sección del vago izquierdo en el pollo disminuye la respuesta secretora de polipeptido pancreático. Se ha comprobado, que el mecanismo de liberación del APP es colinérgico (114).

Este polipéptido es capaz de estimular la secreción del proventrículo en pollos (92). Tras la sección bilateral de los vagos, el proventrículo aun responde a la inyección de APP y Turner y Hazelwood (214) demostraron que el empleo de un agente anticolinérgico no tenía efecto sobre la acción estimulante del mismo.

En pollos no se han encontrado efectos del polipéptido pancreático sobre la secreción exocrina del pancreas a las dosis ensayadas. Sin embargo Linn y



col. (127) encuentran que en perros provistos de una fistula pancreática crónica el PP bovino reduce la secreción de agua y bicarbonato significativamente. También causa una respuesta bifásica de agua y bicarbonato cuando se administra durante una infusión de secretina, respuesta que consiste en un aumento de ambos componentes del jugo pancreático durante los primeros 90 minutos de infusión de polipéptido pancreático bovino para, posteriormente disminuir por debajo de los niveles basales. Además reduce la secreción estimulada por secretina y pancreocimina tanto exógenas como endógenas.

En el hombre los niveles de polipéptido pancreático aumentan sustancialmente tras la comida (1) y aunque la distensión gástrica y la estimulación cefálica vagal contribuyen a la respuesta total del polipéptido pancreático a la comida, la mayor parte de la respuesta es causada por la presencia del alimento en el tracto gastrointestinal (205). Así mismo se ha comprobado que la atropina abole completamente la liberación de polipéptido pancreático humano a la comida ficticia.

#### 2.4.5.- GASTRINA

Esta hormona fue aislada primero en 1964 por Gregory y Tracy (77). Esta compuesta de 17 aminoácidos y existe en dos formas: sulfatada y no sulfatada. La presencia del grupo sulfato no aporta una diferencia de acción de la gastrina o de su potencia o de su nivel de destrucción (80). Posteriormente Yallow y Berson (229) apuntaron que la mayoría de la gastrina circu-



lante en plasma humano parece ser de mayor tamaño que la gastrina clásica de 17 aminoácidos, llamándole a la nueva hormona "gran gastrina". Esta también fue purificada y se determinó su secuencia, viéndose que contenía 17 aminoácidos extra unidos a la porción N-terminal (81). Por lo tanto la "pequeña gastrina" -G17- podía ser generada a partir de la "gran gastrina" -G34- por acción de una encima proteolítica.

Se sabe, que la síntesis intracelular de la hormona comienza por el aminoácido de la porción C-terminal y que también es sintetizada una secuencia inerte N-terminal extra, posiblemente para facilitar el transporte celular de los péptidos hormonales. Se puede especular que todas las células productoras de gastrina tienen ambas formas -G17- y -G34- y que las liberan a ambas simultáneamente. Aun no se ha visto una liberación diferencial de las dos hormonas.

Recientes análisis del plasma han revelado la presencia de más formas de gastrina que las ya descritas, que posiblemente no estén en cantidades biológicamente significativas (52). Una de estas formas tiene 14 aminoácidos y se la ha denominado "mini gastrina" aunque posiblemente no sea más que el resultado de posteriores degradaciones proteolíticas de la gastrina clásica. También se ha encontrado una forma mas grande que la "gran gastrina" que puede que no sea mas que un artefacto del metodo de radioinmunoensayo utilizado (230).

Se han observado considerables diferencias en la respuesta del pancreas a la gastrina dependiendo tanto de la especie estudiada como de las condiciones experimentales bajo las cuales se llevan a cabo los estudios.



En ratas anestesiadas la gastrina porcina incrementa el flujo de jugo pancreático y la producción de proteínas (50). En ratas no anestesiadas, extractos de mucosa antral de cerdo conteniendo gastrina incrementan la producción de proteínas pancreáticas sin afectar el flujo de jugo pancreático (33); sin embargo no se ha observado ningún efecto en respuesta a una comida ficticia cuando el jugo gástrico era drenado al exterior.

En conejos la producción de proteínas aumenta tras estimulación con gastrina tanto in vivo como in vitro (106).

En gatos anestesiados, los extractos antrales no tienen efecto sobre la producción de proteínas ni sobre el flujo de jugo pancreático cuando se inyectan durante una infusión de secretina. Cuando se realiza vagotomía o esplancnigestomía, el páncreas responde a extractos antrales y a estímulos mecánicos y químicos con un aumento de la secreción enzimática (19).

En perros todas las formas de gastrina ensayadas estimulan la producción de proteínas, el volumen de la secreción y el bicarbonato (195).

En el hombre los estudios concernientes a la respuesta del páncreas exocrino a la gastrina dan resultados variables. Así la administración de gastrina sintética no provoca cambios en la secreción de enzimas ni de bicarbonato para unos autores (162), pero si se inyecta durante una infusión de secretina, provoca un aumento de volumen de jugo pancreático, la producción de tripsina y de bicarbonato (227), mientras que otros autores utilizando los mismos diseños experimentales no encuentran cambios (161).



Es posible que el efecto fisiológico de la gastrina sea la producción de una secreción de enzimas pancreáticos significativa a dosis submáximas a las necesarias para la secreción ácida. Según Stenning (195) la gastrina ha mostrado ser un agonista parcial de la pancreocimina.

La importancia de los nervios vagos en el control de la liberación de gastrina, ha sido ampliamente reconocida, pero dada la complejidad de los mecanismos involucrados, es desde hace poco tiempo cuando por el empleo de métodos de radioinmunoensayo se empieza a entender dicha complejidad.

La aplicación de acetil colina en la mucosa antral de perros estimula la liberación de gastrina y además se ha podido comprobar que la liberación nerviosa de la hormona es colinérgica. Sin embargo el hecho de que bajas dosis de atropina incrementen la respuesta a una comida y a una hipoglucemia insulínica en la liberación de gastrina sugiere que, también hay mecanismos colinérgicos inhibidores relacionados con su liberación (219).

La acidificación de la mucosa antral inhibe la liberación de gastrina (218).

No hay estudios sistemáticos que expliquen si diferentes estímulos son capaces de liberar diferentes formas de gastrina.



## 2.5.- RESPUESTA A LA COMIDA

La secreción basal de jugo pancreático observable en periodos de ayuno se ve fuertemente alterada por el estímulo fisiológico natural que supone la ingestión de alimentos. En el curso de la comida se desencadena un proceso de respuesta pancreática a la misma, en el que participan los factores endocrinos y nerviosos anteriormente expuestos.

Tradicionalmente, y de acuerdo con Harper (84), se viene admitiendo que en el proceso de respuesta pancreática a la comida se pueden diferenciar tres fases: cefálica, gástrica e intestinal. La primera estaría caracterizada por un predominio de los factores nerviosos, la segunda supondría una actuación de factores nerviosos y endocrinos y la tercera sería una consecuencia fundamentalmente de factores endocrinos.

La fase cefálica no ha sido demostrada en todos los animales. Por ejemplo en el caballo, con fístula permanente, y con una rutina alimentaria controlada, no se ha podido demostrar una secreción pancreática refleja ante la presentación del alimento (2). Alphin y Lin (3) en ratas observan que no existe una verdadera fase cefálica, y que es la secreción gástrica quien desencadena la respuesta pancreática. Por el contrario Walther (220) en perros encuentra que la comida ficticia produce un pequeño aumento de la secreción pancreática.

La magnitud de la respuesta pancreática a la comida es diferente según las especies. De una manera general, podemos decir que es más prolongada para unos enzimas que para otros y que el flujo lle-----



ga a alcanzar valores del orden de varias veces el basal. Dalmonte y col. (40) estudiaron la secreción pancreática exocrina en el hombre y vieron que la respuesta a la comida es más prolongada para amilasa que para tripsina; también observaron que la secreción basal que es del orden de 47 ml en 30 minutos se llega a duplicar.

Henriksen y Worning (96) investigaron este problema en el perro, llegando a las siguientes conclusiones: el flujo y la velocidad de secreción de bicarbonato eran menores en los primeros 30 minutos que seguían a la comida que en las dos horas y media siguientes, permaneciendo constantes durante este periodo; la secreción de proteínas por el contrario alcanza un máximo en los primeros 30 minutos, para descender después y permanecer constante durante dos horas y media. En todo caso la respuesta es aproximadamente la mitad de la obtenida por administración de secretina y pancreocimina.

En el caballo, Alexander y Hickson (2) encuentran que la respuesta a la comida se presenta con un periodo de latencia de 2 a 3 minutos; el flujo máximo llega a ser 4-6 veces el basal y la duración de la respuesta es del orden de 4 horas. Cabe resaltar que estos autores observan a las 15 ó 16 horas de la comida una nueva elevación del flujo de jugo pancreático que llega a ser dos veces superior al basal.

En pollos son muy pocos los estudios realizados acerca de la respuesta a la comida. Merecen especial atención los de Ivanov y Gotev (107) en los que se describe que después de la comida el nivel de secreción se multiplica por cinco en una hora, decreciendo gradualmente hasta los niveles iniciales.



Kokue y Hayama en 1972 (115) utilizando pollos provistos de una fístula pancreática crónica encuentran que el volumen de jugo pancreático secretado tras la ingesta es dos veces y media superior al basal previo, efecto que es abolido en gran parte por la vagotomía, al tiempo que se produce una disminución en la concentración de proteínas de jugo pancreático. Cuando los pollos eran alimentados durante 20 minutos, después de haber permanecido 24 horas en ayuno se observaba un incremento en la secreción después de 3 minutos, hallándose el máximo nivel de secreción a los 20 ó 30 minutos del inicio de la ingesta.



===== METODO =====



### 3.1.-DISEÑO EXPERIMENTAL

3.1.1.-Experimentos con animales no anestesiados.

3.1.1.1.-Secreción pancreática de reposo.

3.1.1.2.-Variaciones de la secreción de reposo a lo largo de 24 horas.

3.1.1.3.-Secreción en respuesta a la presentación de alimento.

3.1.1.4.-Secreción en respuesta a la ingestión de 25,50 y 75 g. de comida.

3.1.2.-Experimentos con animales anestesiados.

3.1.2.1.-Secreción de reposo.

3.1.2.2.-Secreción espontanea.

3.1.2.3.-Efecto del corte de Tronco vagosimpático a nivel cervical.

3.1.2.4.-Efecto de la administración de atropina.

3.1.2.5.-Efecto de la administración de hexametonio.

3.1.2.6.-Efecto de la estimulación eléctrica (15v/0,3ms/25pps) del tronco vagosimpático izquierdo en el cuello.

3.1.2.7.-Efecto de la administración de acetilcolina.

3.1.2.8.-Efecto de la estimulación eléctrica del tronco vagosimpático izquierdo tras atropinización.

3.1.2.9.-Efecto de la administración de acetilcolina tras atropinización.

3.1.2.10.-Efecto de la administración de adrenalina.

3.1.2.11.-Efecto de la administración de un bloqueante adrenergico alfa(Fentolamina)

3.1.2.12.-Efecto de la administración de un bloqueante adrenergico beta(Propranolol)

3.1.2.13.-Efecto de la administración de adrenalina tras bloqueo  $\alpha/\beta$  adrenergico.

3.1.2.14.-Efecto que sobre el flujo de sangre de salida del pancreas tienen las maniobras anteriores.



### 3.2.- ANIMALES

Para la realización del presente trabajo se han utilizado un total de 179 pollos broiler, de pesos comprendidos entre los 2 y 3 kg., suministrados por el Servicio de Animales de Laboratorio de la Universidad de Granada.

### 3.3.- PROCEDIMIENTO QUIRURGICO

#### 3.3.1.- PREOPERATORIO.

Durante los 15 días previos a la intervención, los animales se alojaron en jaulas especiales, colocadas en una habitación con sistema de calefacción y ventilación regulable. La alimentación básica durante este periodo consistió en pienso comercial para pollos, suministrado de forma aleatoria a lo largo del día para evitar la habituación.

El periodo de ayuno previo a la intervención se estandarizó, estimándose adecuado retirar el pienso 24 horas antes de la operación, si bien se permitió el libre acceso al agua.

#### 3.3.2.- OPERATORIO

El principal problema físico que presenta la investigación de la secreción pancreática exocrina en el pollo, radica en la aparición de mucus por la excitación mecánica de la canulación sobre el conducto pancreático, mucus que llega a obturar el conducto (93,104) a las 2 ó 3 horas. Para evitar este problema, hemos desarrollado un sistema que consiste en llevar a cabo una primera intervención en la que tan solo se canula el con-



ducto pancreático y se permite al animal recuperarse durante dos o tres días hasta que desaparecen los problemas de obturación de las cánulas. Así, los animales que se van a someter a experimentos agudos y que describimos en el apartado correspondiente, han sido previamente operados siguiendo la técnica que vamos a exponer en el apartado de experimentos crónicos.

### 3.3.2.1.-EXPERIMENTOS CRONICOS

La anestesia se realizó por vía endovenosa a través de una cánula plástica (Braunula, N.R.) introducida en la vena alar (V.cutanea-cubital), dejándola fija en tal posición. Como inductor de la anestesia se ha empleado benzodiazepina (Valium, N.R.) en dosis de 10 mg./Kg.peso corporal. La anestesia se consiguió con tiobarbital sódico en dosis que oscilaron entre 0,05 g. y 0,025 g. Su administración fue lenta y progresiva, vigilando los reflejos oculo-parpebral y corneal para asegurarnos de la profundidad de la anestesia.

Tras un minucioso desplumado del campo operatorio, se desinfectaba éste con torundas empapadas en tintura de yodo. A continuación se fijaba el animal, en la posición decúbito supino, a una mesa de quirófano. Empleando material estéril se procedía a la intervención dentro de unas rigurosas condiciones de asepsia.

Tras laparatomía lateral derecha, de unos cuatro centímetros, inmediatamente detrás de la quilla, se localizaba el asa duodenal, cuyas dos ramas están unidas por mesenterio que a su vez mantiene al páncreas en posición. Se localizaba el conducto pancreático principal, se disecaba y a unos cinco milímetros de su desem-



bocadura en duodeno, se realizan dos incisiones por las que se introducen sendas cánulas de goma siliconada. La primera en dirección duodeno-pancreas, nos permitió la recogida de jugo pancreático; la segunda en dirección pancreas-duodeno permitía el reingreso al intestino del jugo drenado que no iba a utilizarse para los análisis. Ambas cánulas se aseguraban con ligaduras dobles de lino (Braun, nº 0).

Las cánulas se exteriorizaron a través de la pared abdominal derecha, mediante una herida de transfixión. Tras asegurarnos de que las cánulas quedaban en posición y dirección adecuadas, se cerraba la herida por planos, según la técnica habitual, con seda atraumática (Braun nº 0).

La herida y la zona de afloramiento de las cánulas se impregnaron con aerosol de cloranfenicol y violeta de genciana, cubriéndose ambas zonas con un vendaje plástico en spray.

El tiempo de recuperación de la anestesia varió entre una y dos horas, a las seis horas se les facilitaba el acceso al agua y a las doce horas a la comida. Concluido el periodo postoperatorio de recuperación, que tenía una duración media de 48 horas, los animales se consideraban en condiciones fisiológicas.

Un grupo de ellos, (55 pollos) se utilizaron para los experimentos crónicos, sin ulterior manipulación quirúrgica, mientras que el resto (124 pollos) volvieron a operarse para poder realizar los experimentos agudos, sin que se presente el problema de obturación de las cánulas.



### 3.3.2.2.- EXPERIMENTOS AGUDOS

Para la anestesia de la segunda intervención, se siguió el procedimiento descrito en el apartado anterior.

Tras abrir la herida de la primera operación, se ligaba el píloro, se canulaban los conductos biliares y se drenaba la bilis al exterior. En los casos en los que se midió el flujo de salida de sangre del pancreas, se canuló la vena pancreático-duodenal. La sangre drenada, tras pasar por un sistema de conteo de gotas, se volvía a perfundir por la cánula de la vena ailar. Todo el circuito se mantenía heparinizado (Heparina 0,04%).

Después de practicar una incisión en el cuello del animal se canulaban, la arteria carótida derecha y la vena yugular del mismo lado. La primera cánula nos permitía la medida de la presión arterial y la segunda la administración de las distintas sustancias ensayadas.

En los animales en los que se iban a realizar estimulaciones nerviosas, se procedía a aislar el vago izquierdo, dejándolo preparado para su estimulación.

Tan solo se disecaba un vago para estimulación, ya que en esta especie, estos nervios contienen vías aferentes que son imprescindibles para el funcionamiento respiratorio (ritmicidad, profundidad etc.), por lo que la sección de ambos implica la muerte del animal en un lapso breve de tiempo. Esta dificultad está no obstante, en vías de solución por medio de la perfusión continuada de carbógeno desde la traquea, permitiéndose



su salida por los sacos aéreos ventrales.

En cinco animales, además de todas las maniobras descritas, se insertaron dos cánulas duodenales, que permitieron la perfusión del asa con HCl 0,15 N (fig.B). En estos mismos animales, y a través de una laparatomía lateral izquierda se ligaba el esófago, se colocaba una cánula en el proventrículo y otra en la molleja (fig.C); este dispositivo nos permitió así mismo, perfundir el estómago complejo de esta especie, con una solución de  $\text{HCO}_3\text{Na}$  0,15 N.

#### 3.4.-SISTEMAS DE REGISTRO Y ESTIMULACION

En los experimentos crónicos, el jugo pancreático que fluía por la cánula, se recogía en bolsas de polietileno, previamente taradas, que se mantenían resguardadas en un bolsillo existente en los trajes especiales con que fueron provistos los animales y que les permitía moverse libremente y llevar a cabo las funciones fisiológicas de alimentación y excreción sin impedimento alguno.

El volumen de jugo pancreático se determinó por diferencia de pesada, considerando la densidad del jugo pancreático igual a la unidad. Se tomaron partes alícuotas que se conservaron en frascos de vidrio a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

En los experimentos agudos, tanto el flujo de jugo pancreático, como el flujo de sangre se determinaron por medio de contadores de gotas automáticos, que funcionan bien por un efecto piezoeléctrico (trans-



ductor "DROP COUNTER A-978") o bien por un efecto fotoeléctrico.

Parte del jugo pancreático se recogió y guardó a  $-20^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis; el resto se reinfundió al duodeno. La sangre se perfundía por la cánula de la vena alar, por medio de una bomba peristáltica "PERISTALTIC PUMP, model 603".

Para el registro continuo de la presión arterial, la cánula insertada en la arteria carótida se conectaba a un transductor "STATHAM P. 23Db" que a su vez se conectaba por medio de un preamplificador a un polígrafo (PHYSIOGRAPH E-M) de 6 canales o a uno de 4 canales (HARVARD 490).

Para las estimulaciones vagales se empleó un estimulador "HARVARD 344".

Para la infusión de los fármacos a ensayar se utilizó una bomba peristáltica regulable "UNITA II.B.BRAUN".

### 3.5.-CONTROL POSTMORTEM

Cuando se concluyen los experimentos se decapitan los animales y se examina la cavidad abdominal, observando la buena situación de las cánulas y el estado de las suturas. La bondad de la preparación se confirma además tras estudio citológico con microscopio de luz, de cortes semifinos incluidos en plástico y fijados "in vivo" como se pone de manifiesto en la Fig.D. En dichas microfotografías, se evidencian los acinos celulares en disposición característica no observándose ningún dato que pueda inducir la sospecha de degeneración o grave alteración funcional.



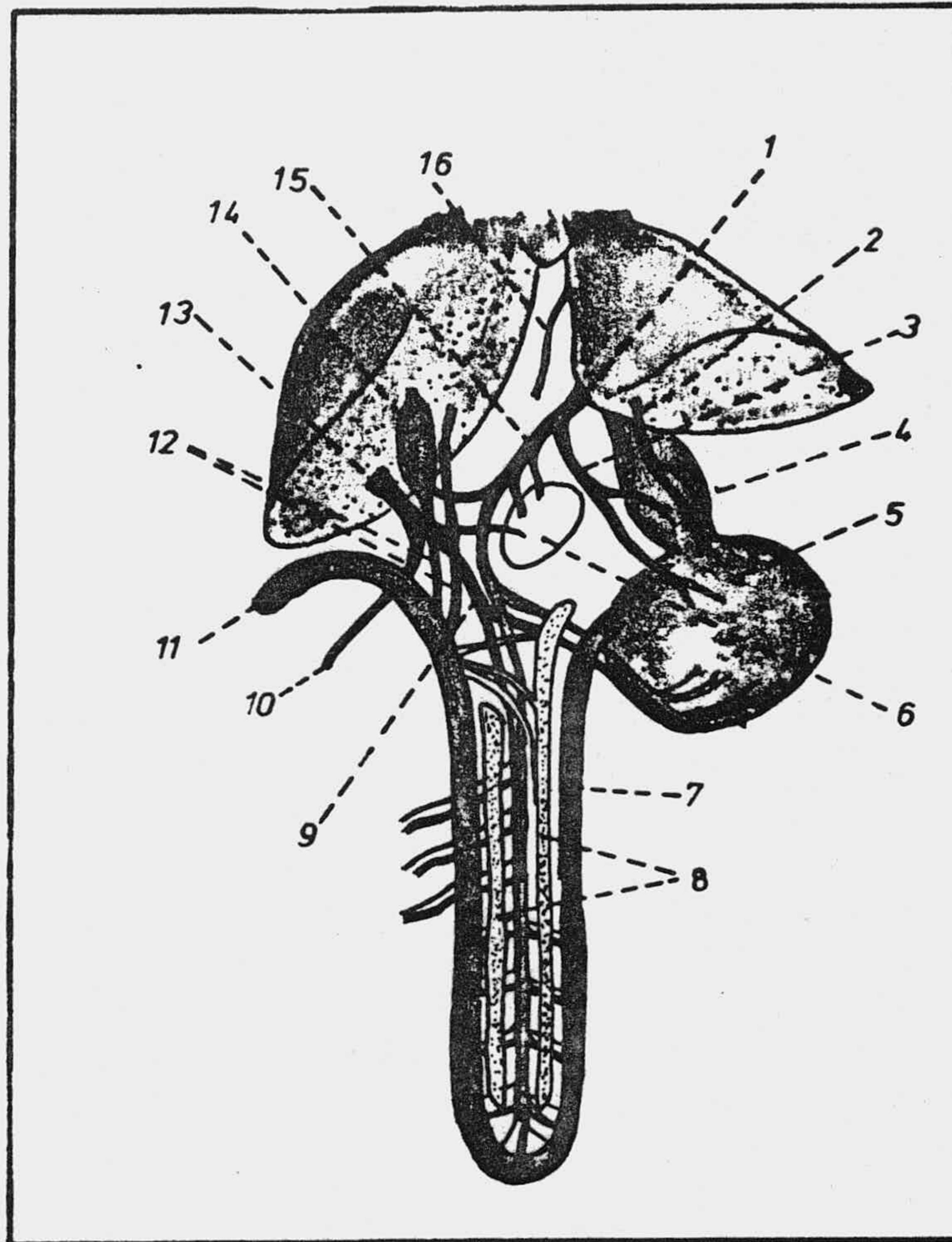


FIG. A: Disposición del pancreas en el asa duodenal y estructuras anejas.

- 1.- arteria celiaca.
- 2.- vena porta hepática izquierda.
- 3.- arteria gástrica izquierda.
- 4.- proventrículo.
- 5.- molleja.
- 6.- bazo.
- 7.- duodeno.
- 8.- lóbulos pancreáticos.
- 9.- v. gastroduodenal.
- 10.- vena mesentérica.
- 11.- intestino.
- 12.- conductos biliares.
- 13.- vena porta hepática.
- 14.- vesicula biliar.
- 15.- arteria hepato-duodenal.
- 16.- vena falciforme.



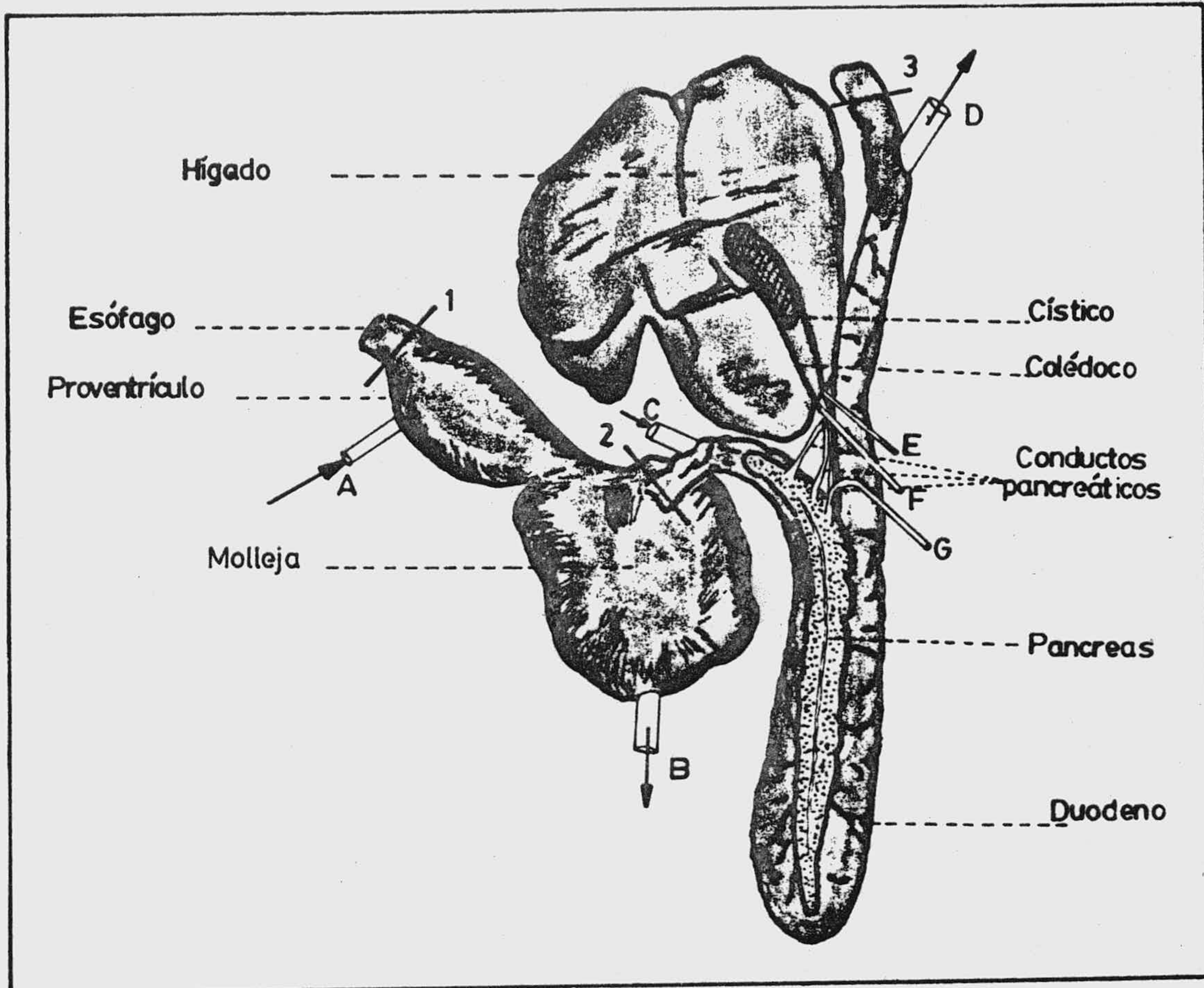


FIG. B: Esquema general de la disposición de las cánulas.

1,2 y 3: Ligaduras.

A y B: Cánulas de proventrículo y molleja respectivamente.

C y D: Cánulas duodenales.

E y F: Cánulas en conductos biliares.

G: Cánula en conducto pancreático principal.



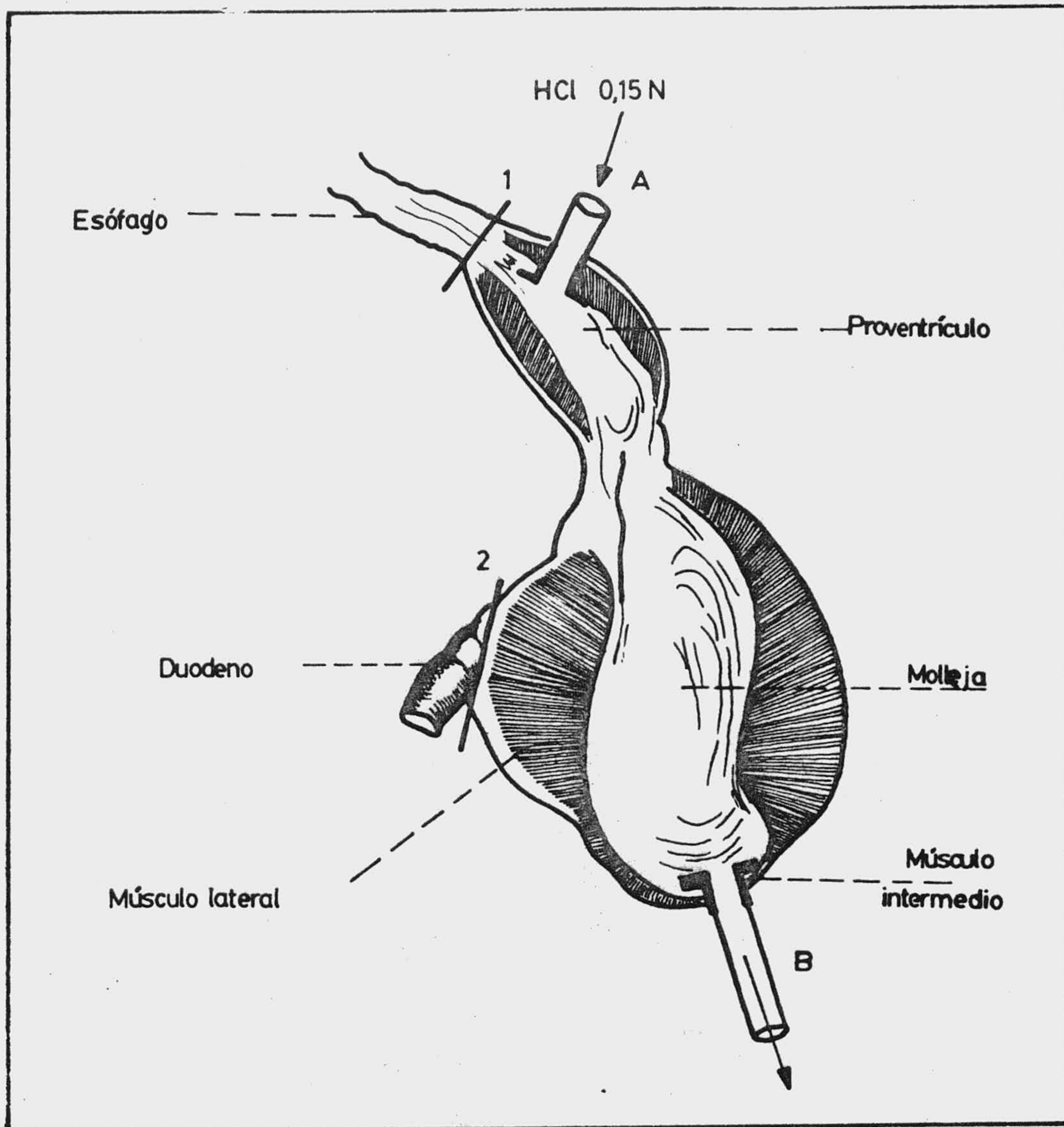


FIG. C: Esquema de la disposición de las cánulas de proventrículo (A) y molleja (B).

1 y 2: Ligaduras.



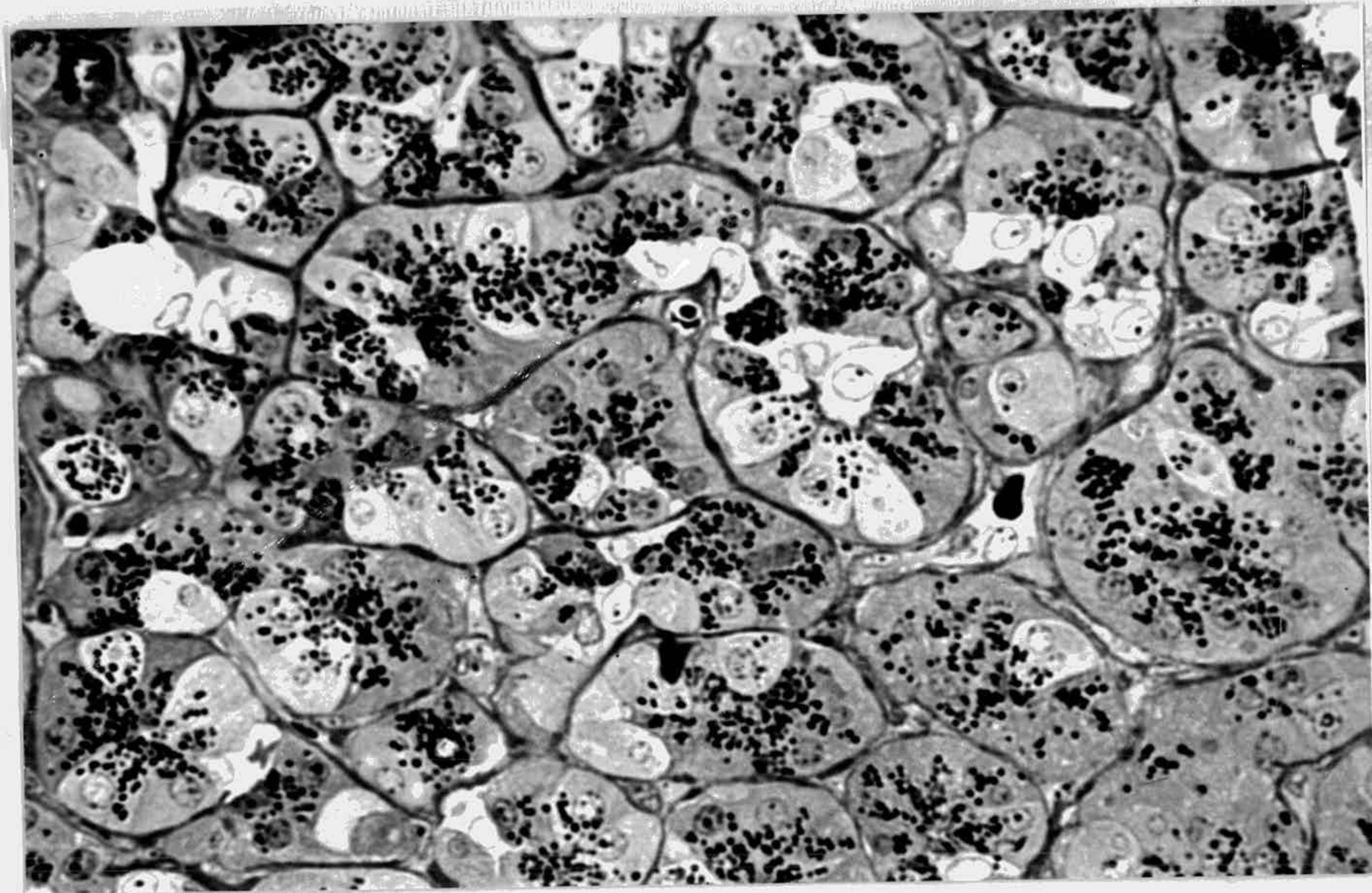
FIG D

CORTE HISTOLOGICO DE PANCREAS CONTROL

CORTE HISTOLOGICO DEL PANCREAS DE UN  
POLLO OPERADO 7 DIAS ANTES

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES







### 3.6.- TECNICAS ANALITICAS

Para la determinación cuantitativa de los componentes del jugo pancreático estudiados, hemos utilizado los métodos analíticos que se describen a continuación.

#### 3.6.1.- CONTENIDO EN PROTEINAS TOTALES

Se determinó utilizando espectrofotometría directa a 280 nm (128). Las lecturas, que se realizaban en un espectrofotómetro "UNICAM SP 600 UV", se comparaban con una curva estandar de clorhidrato de L-Tirosina y los resultados se expresan en  $\mu$ moles de Tiro-sina por ml. de jugo pancreático. Los valores se consideran significativos del contenido en proteínas totales de acuerdo con diversos autores (147).

#### 3.6.2.- ACTIVIDAD AMILASICA

La determinación se basa en la hidrólisis de un sustrato de almidón por dicha enzima y el posterior cálculo colorimétrico de la maltosa liberada, según la técnica de Norlting y Bernfield (151), expresando los resultados en unidades de actividad amilásica de acuerdo con dichos autores. Las lecturas se hacen a 520 nm en un espectrofotómetro "UNICAM SP 600 UV".

#### 3.6.3.- DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE CLORUROS

La valoración de este anión se hizo por volumetría potenciométrica con  $\text{NO}_3\text{Ag}$  0,01 N previamente



valorado empleando un electrodo de plata "RADIOMETER P-4. 011" y otro de sulfato mercurioso "RADIOMETER K-601", conectados a un potenciómetro "RADIOMETER, pH-METER-26". Los resultados se expresan en mEq/l. de  $\text{Cl}^-$ .

#### 3.6.4.-DETERMINACION DE SODIO Y POTASIO

Ambos cationes se determinaron por fotometría de llama en un fotómetro "KLINA AUTOMATIC" de lectura digital expresándose los resultados en mEq/l.

#### 3.6.5.-DETERMINACION DE BICARBONATO

Este anión se ha calculado empleando la fórmula descrita por Wheeler y Mancusi-Ungaro (223) cuya validez en el caso de jugo pancreático del pollo fue previamente comprobada por nosotros, para lo cual medimos el bicarbonato en un analizador "AVL-GASOMETRO".

#### 3.7.-PRODUCTOS FARMACOLOGICOS UTILIZADOS

Todos los productos que se relacionan a continuación se administraron disueltos en solución salina isotónica por vía endovenosa.

- ADRENALINA: Clorhidrato de Adrenalina (I.Llorente, S.A.). Dosis: 3,6  $\mu\text{g.}/\text{Kg.}/\text{min.}$  administrada en infusión continua.

- ACETIL COLINA: Clorhidrato de Acetil colina (Merck). Dosis: 10  $\mu\text{g.}/\text{Kg.}$  en inyección simple.



- ATROPINA: Sulfato de Atropina (Erba).  
Dosis: 3 mg./Kg. en inyección simple.

- HEXAMETONIO: Bromuro de Hexametonio  
(Koch-Light Lab.Ltd). Dosis: 10mg./Kg. en inyección simple.

- FENTOLAMINA: Phentolamina metasulfónica  
(Regitine, N.R.,Ciba.) Dosis: 4 mg./Kg. en inyección simple.

- PROPRANOLOL: (Sumial N.R.,Ici-Farma).  
Dosis: 2,5 mg./Kg. en inyección simple.

### 3.8.- TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS

Se ha calculado el valor medio y el error estandar de la media (E.E.M.) de las muestras pertenecientes a un mismo parámetro.

Para el estudio de la diferencia entre las medias muestrales, cuando los dos conjuntos de valores muestrales están relacionados entre si en el sentido de que corresponden a una sola serie de individuos, se ha empleado el test "t" de parejas de muestras; cuando las muestras se obtienen a partir de dos poblaciones independientes, la estimación de la varianza no se hace por medio de agrupacion de los datos, utilizándose en este caso el estadístico "t" para  $(N_1 + N_2 - 2)$  grados de libertad igualado a:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{[(s_1^2/n_1) + (s_2^2/n_2)]}} \quad (153)$$

Para comparar las respuestas a las ingestas sólidas, se ha utilizado un programa de análisis



temporal en el que se realiza un test de "t" de Student para medias de grupo. Dicho análisis ha sido llevado a cabo por el Centro de Cálculo de la Universidad de Granada.



===== RESULTADOS =====



En las paginas siguientes se incluyen las tablas, figuras y registros de los resultados mas interesantes. Los protocolos y valores individuales de los diferentes experimentos se encuentran en el Departamento Interfacultativo de Fisiologia Animal, a disposicion de quien quiera consultarlos.

En las figuras 1 al 16, 17 y 19 las producciones de proteinas totales ( $\mu\text{M}.$ Tiros./min.) y las de amilasa (U.A.A./min.) estan multiplicadas por  $10^3$ . Asimismo las producciones de Sodio, Potasio, Cloruros y Bicarbonato (mEq/min.) lo estan por  $10^6$ .



ANIMAL N°	FLUJO J P µl/min.	PROT. TOTALES		AMILASA		SODIO		POTASIO		CLORUROS		BICARBONATO		CONDIC.
		CON. µM Tiros/ml	PROD. µM Tiros/min	CON. U.A.A/ml	PROD. U.A.A/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	
117	6,50	0,53	3,48	12,98	84,37	196	1274,00	4,4	28,60	180	1170,00	24,40	158,60	
118	5,75	0,53	3,05	20,60	118,45	-	-	-	-	-	-	-	-	
119	4,66	1,36	6,33	62,34	290,50	192	895,00	5,2	24,23	156	727,00	41,20	192,00	
120	6,08	0,42	2,53	12,84	78,07	176	1070,10	4,8	29,18	144	875,52	36,80	223,75	
121	7,10	0,38	2,68	4,13	29,32	152	1079,20	3,6	25,56	124	880,40	31,60	224,36	
122	4,49	2,64	11,85	152,87	686,39	176	790,24	5,2	23,35	140	628,60	41,20	185,00	
123	5,93	0,28	1,69	26,59	157,68	156	925,08	3,2	18,98	140	830,20	19,20	113,85	
124	3,53	0,35	1,23	3,88	13,70	180	635,40	4,0	14,12	128	451,84	56,00	197,60	
125	4,80	0,29	1,40	15,72	75,46	224	1075,20	5,2	24,96	152	729,60	77,20	370,56	
126	4,88	0,63	3,06	67,10	327,45	224	1093,12	5,2	25,37	184	898,00	45,20	220,58	
127	4,60	0,84	3,85	103,95	478,17	196	901,60	4,4	20,24	160	736,00	40,40	185,84	
128	4,83	3,65	17,63	155,91	753,04	168	811,44	5,2	25,12	152	734,16	21,20	102,39	
129	3,20	1,00	3,19	59,64	190,85	168	537,60	4,8	15,36	140	448,00	32,80	104,96	
130	2,55	0,94	2,41	52,12	132,91	-	-	-	-	-	-	-	-	
131	3,03	0,30	0,91	15,88	48,12	192	581,76	4,4	13,33	184	557,52	12,40	37,57	
132	8,61	0,07	0,61	2,26	19,46	204	1756,44	4,8	41,33	172	1481,00	36,80	316,85	
133	2,24	0,47	1,06	32,29	72,33	188	421,12	4,8	10,75	168	376,32	24,80	55,55	
134	9,73	0,21	2,01	7,62	74,14	160	1556,80	4,4	42,81	140	1362,20	24,40	237,41	

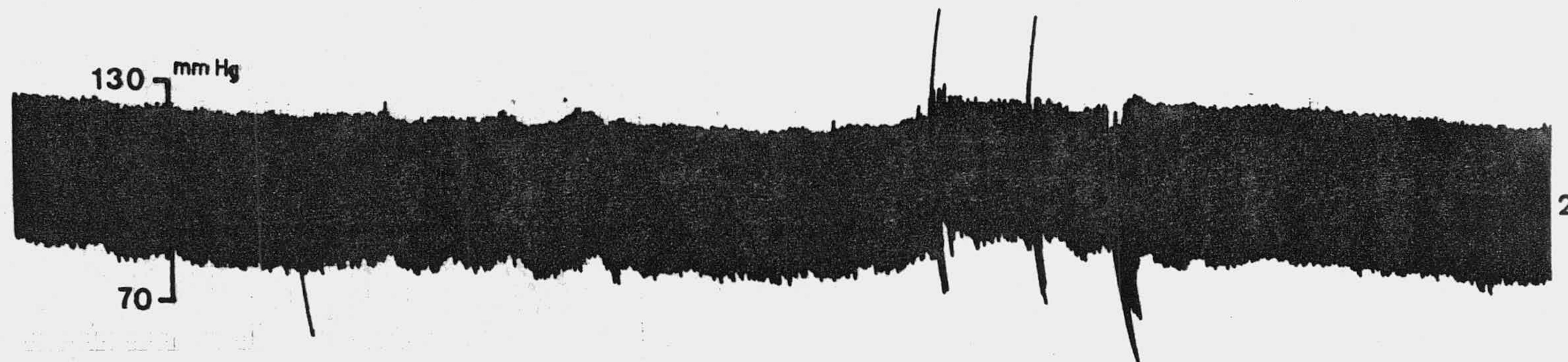
TABLA I: Secrecion pancreatica de reposo en pollos anestesiados.



ANIMAL N°:	FLUJO J P µl/min.	PROT. TOTALES		AMILASA		SODIO		POTASIO		CLORUROS		BICARBONATO		CONDIC.
		CON. µM Tiros/ml	PROD. µM Tiros/min	CON. U.A.A/ml	PROD. U.A.A/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	
135	5,20	0,46	2,39	10,06	52,31	156	811,20	4,8	24,96	128	665,60	32,80	170,56	
136	5,21	0,34	1,76	6,17	32,14	156	812,76	4,0	20,84	116	604,36	40,00	229,24	
137	4,48	0,37	1,67	43,82	196,31	160	716,80	4,8	21,50	108	483,84	56,80	254,46	
138	3,43	0,79	2,71	42,98	147,42	176	603,68	3,6	12,35	152	521,36	27,60	94,67	
139	5,60	0,19	1,07	6,12	34,27	180	1008,00	4,0	22,40	132	739,20	52,00	291,20	
140	6,12	0,27	1,63	16,06	98,29	196	1199,52	4,4	26,93	160	979,20	40,40	247,25	
141	6,46	0,38	2,49	32,10	207,36	180	1162,80	4,8	31,00	152	981,92	32,80	211,88	
142	3,97	1,44	5,73	71,67	284,53	184	730,48	4,4	17,47	144	571,68	44,40	176,27	
143	4,58	0,91	4,16	67,10	307,32	172	787,76	4,4	20,15	140	641,20	36,40	166,71	
144	2,07	0,73	1,51	74,05	153,28	200	414,00	5,2	10,76	184	380,88	21,20	43,88	
145	2,73	0,23	0,86	1,76	6,56	192	716,16	4,4	16,41	152	567,00	44,40	165,61	
146	2,15	0,96	2,06	72,02	154,84	172	369,80	4,4	9,46	144	309,60	32,40	69,66	
147	3,03	0,78	2,35	47,12	142,77	196	593,88	5,2	15,75	184	557,52	17,20	52,12	
148	5,80	0,14	0,83	4,48	25,98	188	1090,40	5,2	30,16	140	812,00	53,20	308,56	
149	2,71	0,34	0,92	21,65	58,67	200	542,00	4,8	13,01	152	411,92	52,80	143,10	
Media	4,72	0,70	3,06	40,17	167,65	182,6	869,78	4,6	21,82	150,1	713,34	37,08	179,06	
E.E.M. n=33.	0,31	0,12	0,58	6,96	31,11	3,3	57,88	0,1	1,46	3,6	49,71	2,50	15,21	

TABLA I cont.: Secrecion pancreatica de reposo en pollos anestesiados. (\*) Valores que han sido multiplicados por  $10^3$ . (\*\*) Valores que han sido multiplicados por  $10^6$ .





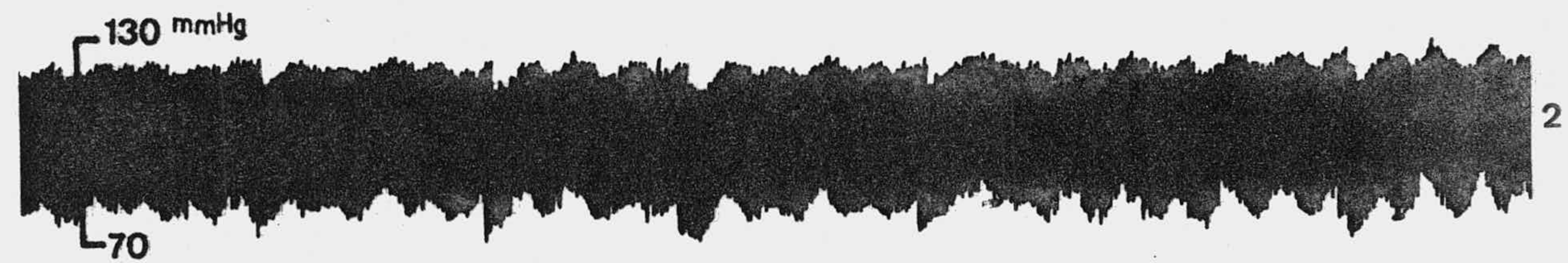
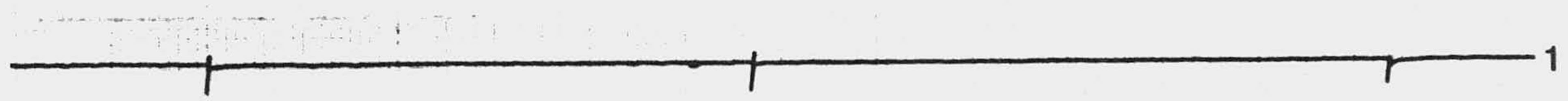
REGISTRO 1: Secreción pancreática de reposo en pollo anestesiado. 1) gotas de jugo pancreático. 2) presión arterial. 3) tiempo en minutos.



ANIMAL N°	FLUJO J P µl/min.	PROT. TOTALES		AMILASA		SODIO		POTASIO		CLORUROS		BICARBONATO		CONDIC.
		CON. µM Tiros/ml	PROD. µM Tiros/min	CON. U.A.A/ml	PROD. U.A.A/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	CON. mEq/l	PROD. mEq/min	
25	2,58	0,40	1,04	15,87	41,00	140	361,20	4,0	10,32	132	340,50	12,00	30,90	
26	4,81	0,18	0,86	6,50	31,25	148	711,88	4,0	19,24	136	654,16	16,00	76,90	
27	2,80	0,20	0,55	14,41	40,35	168	470,40	5,2	14,56	156	493,00	17,20	45,16	
28	3,23	0,30	0,98	21,28	68,65	132	369,60	4,4	12,32	116	324,80	20,40	57,12	
29	4,00	0,14	0,57	3,94	15,76	168	672,00	4,4	17,60	168	672,00	4,40	17,60	
Media	3,48	0,24	0,80	12,40	39,40	151,2	517,02	4,4	14,81	141,6	496,89	14,0	45,53	
E.E.M	0,41	0,04	0,10	3,17	8,61	7,3	74,22	0,2	1,64	9,2	73,98	2,7	10,27	
n=5.														

TABLA II: Secrecion pancreatica espontanea en pollos anestesiados. (\*)Valores que han sido multiplicados por  $10^5$ . (\*\*)Valores que han sido multiplicados por  $10^6$ .





REGISTRO 2: Secreción pancreática espontanea en pollo anestesiado.



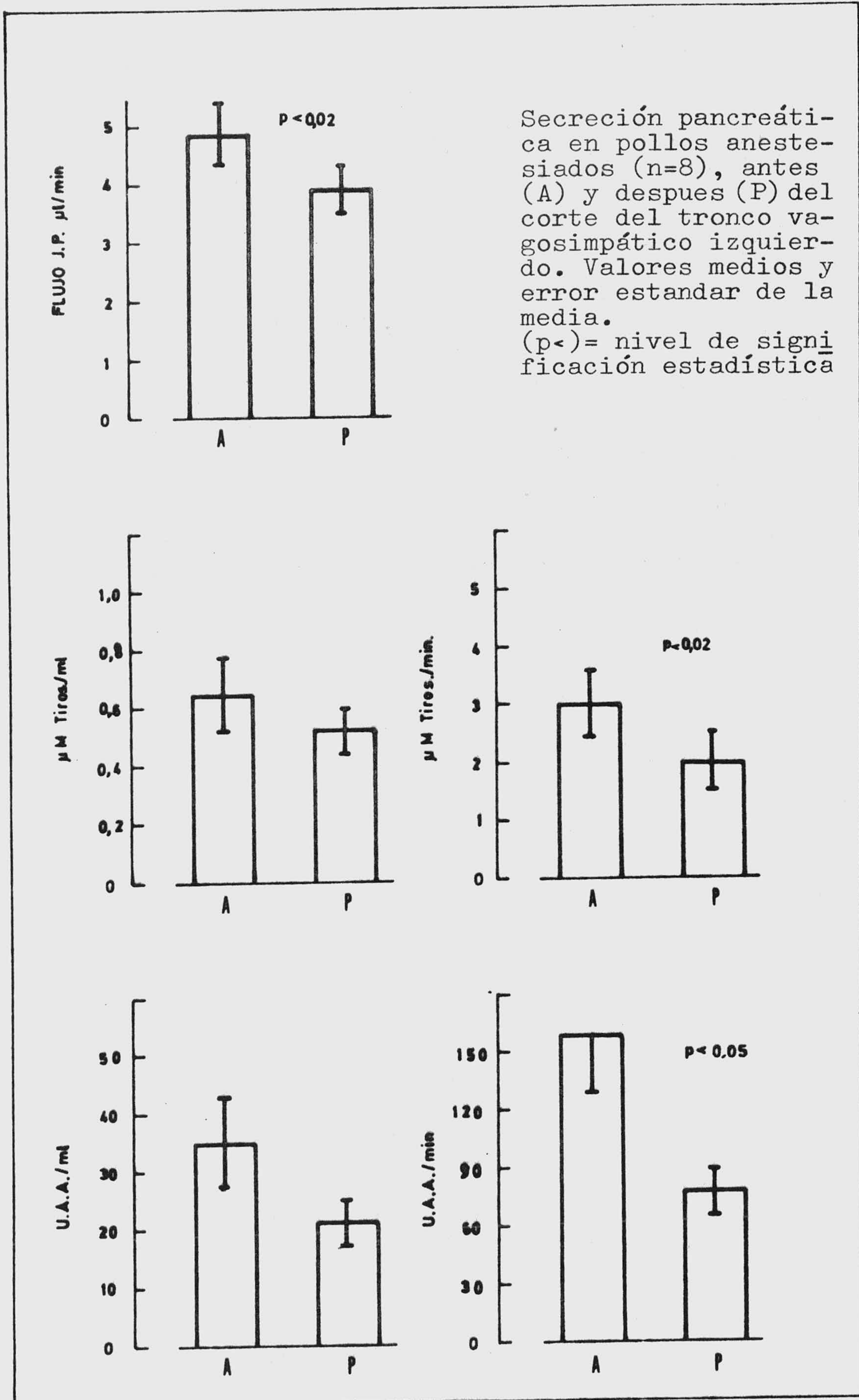


FIG. 1



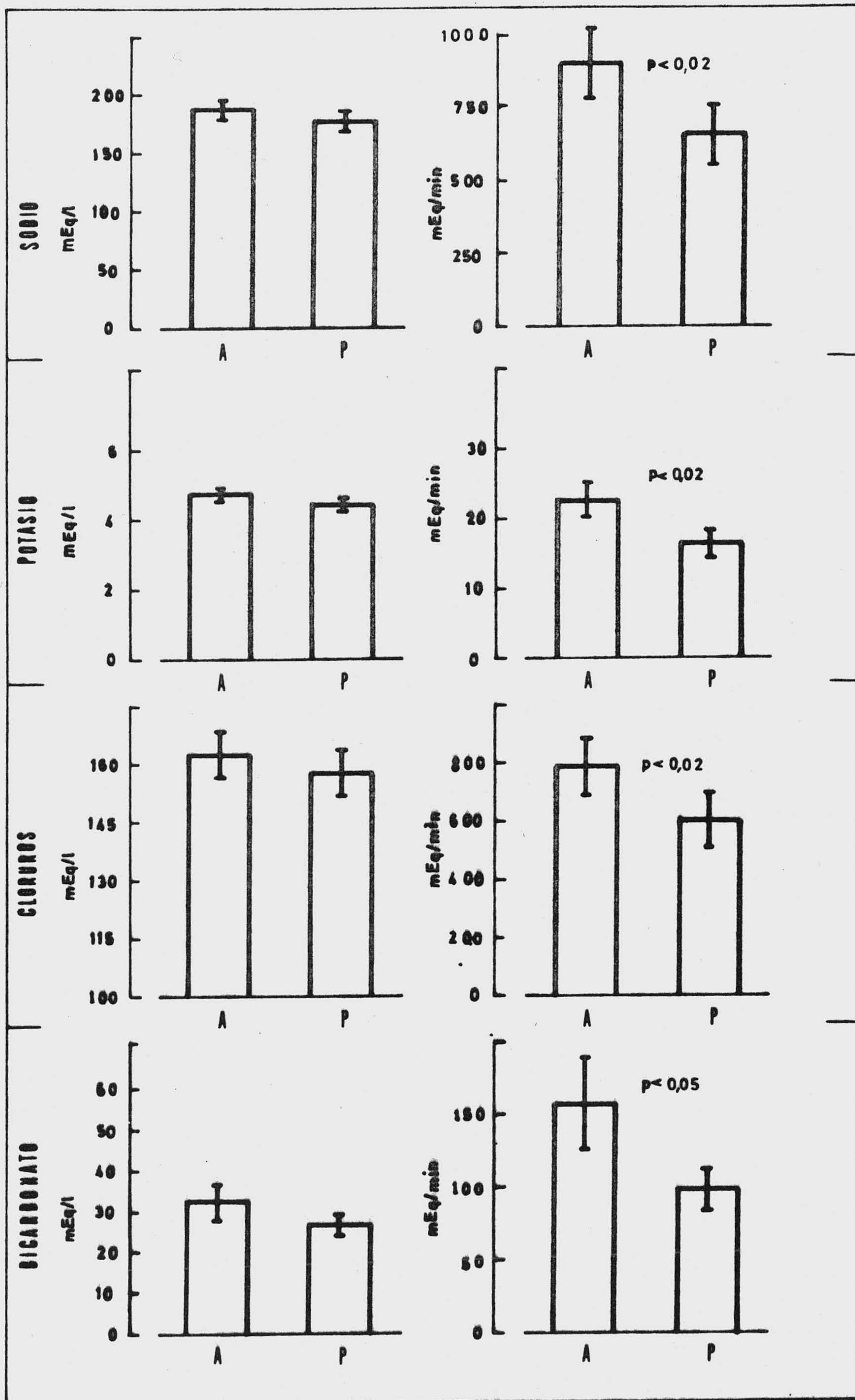
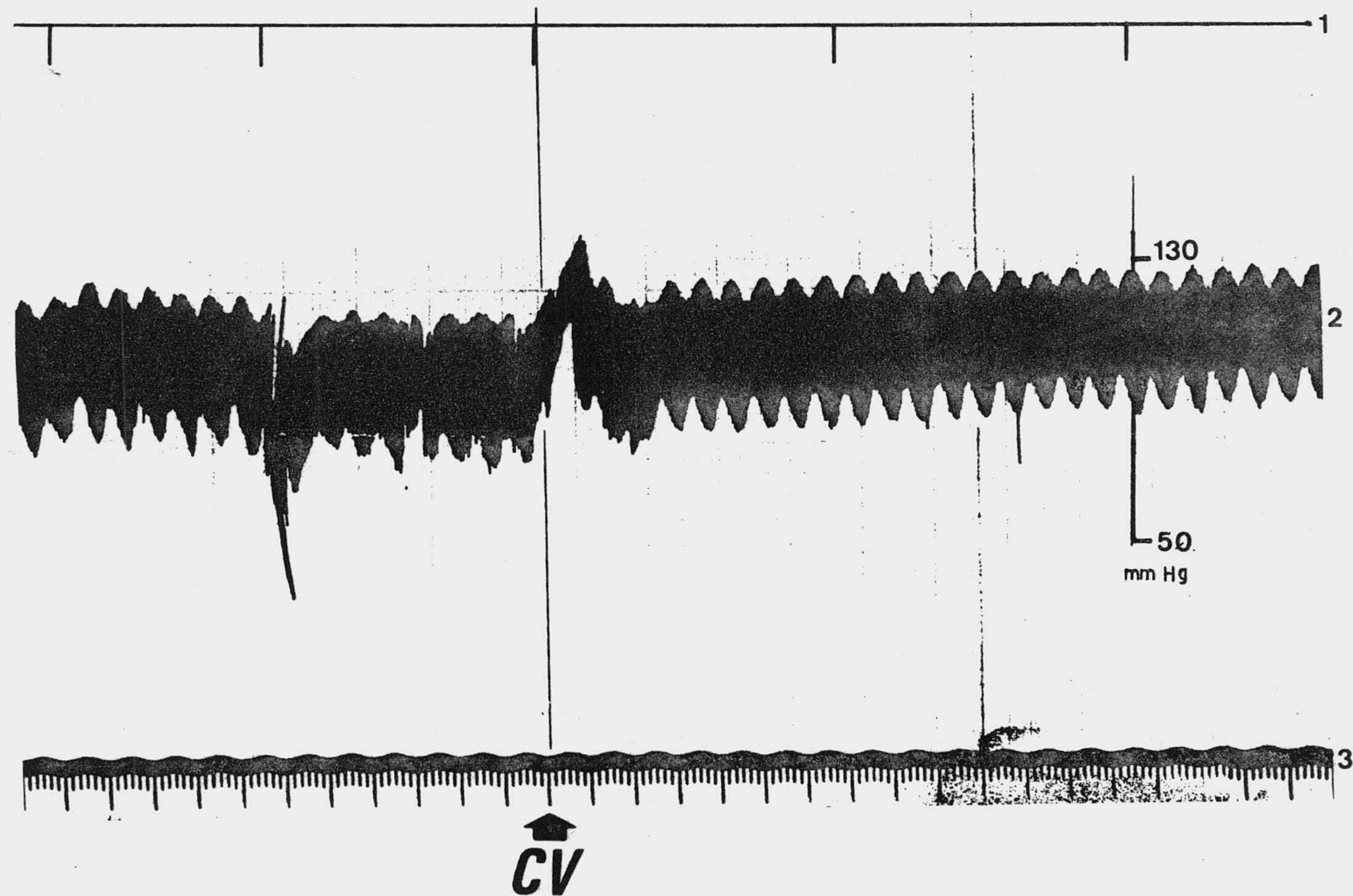


FIG.1 CONT.





REGISTRO 3: Efecto del corte del tronco vagosimpático izquierdo (CV) sobre el flujo de reposo de jugo pancreático (1) y sobre la presión arterial (2) en pollo anestesiado.



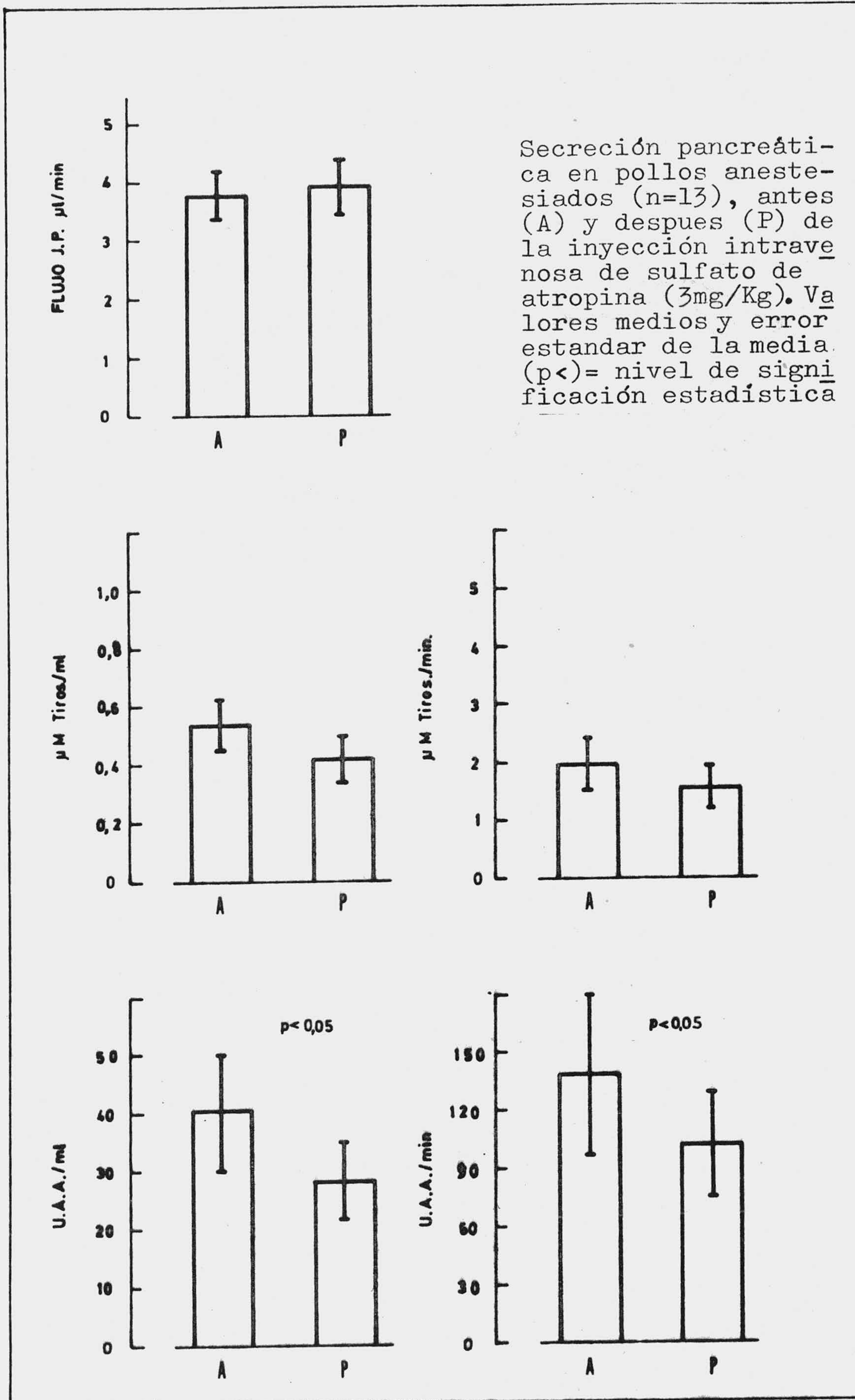


FIG. 2



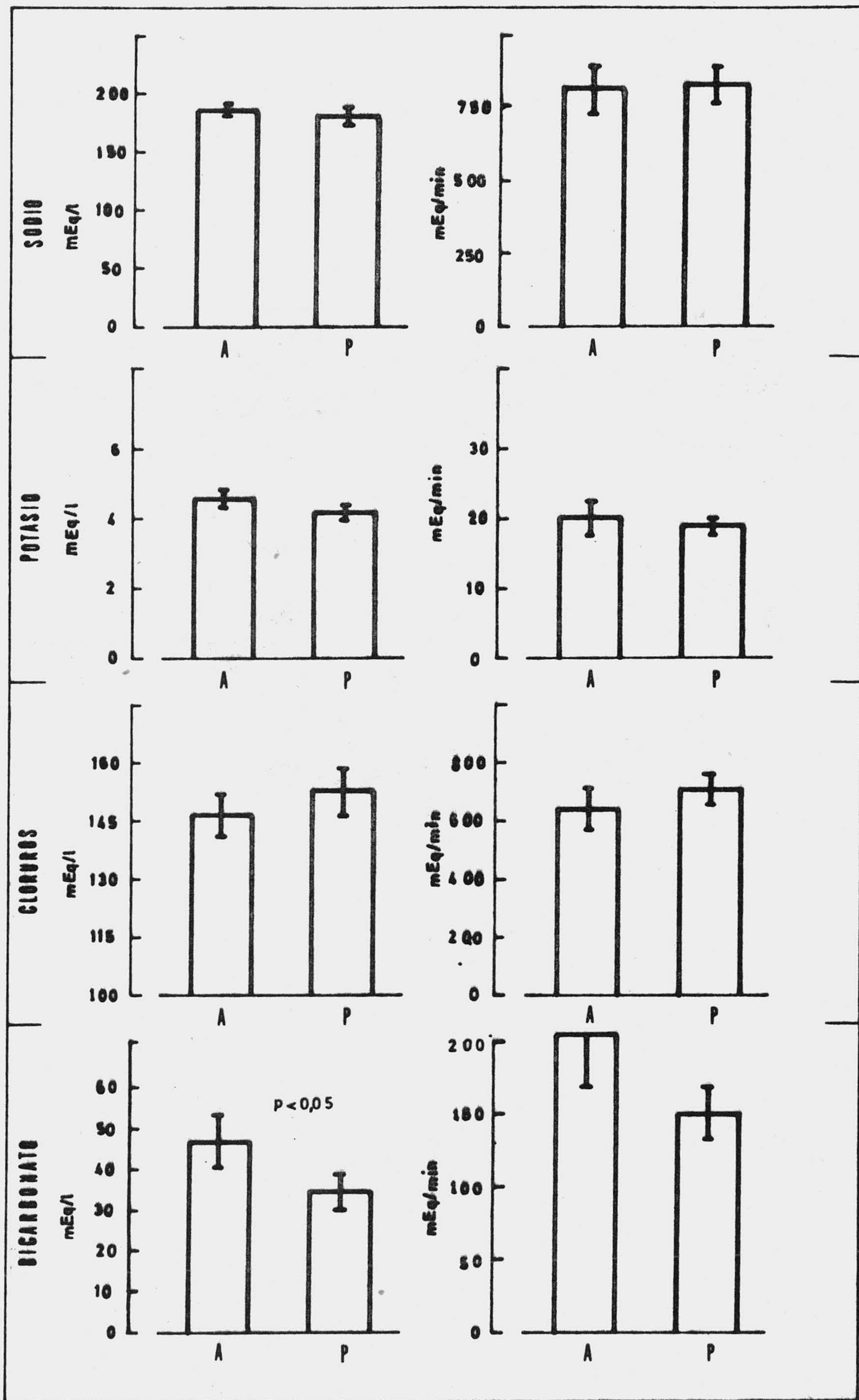
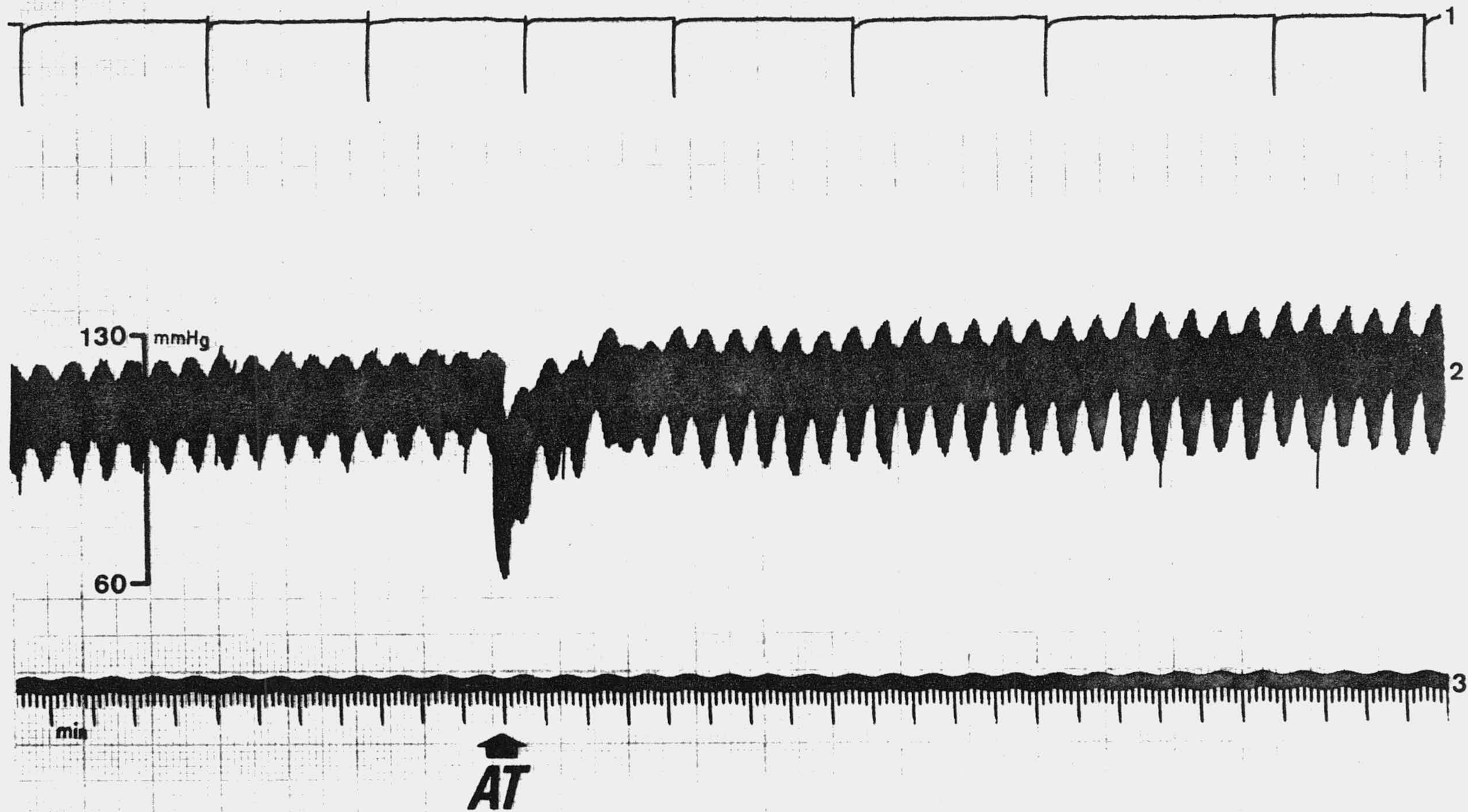


FIG. 2 CONT.





REGISTRO 4: Efecto de la administración intravenosa de sulfato de atropina (3mg/Kg) (AT) sobre el flujo de reposo de jugo pancreático (1) y sobre la presión arterial (2) en pollo anestesiado.



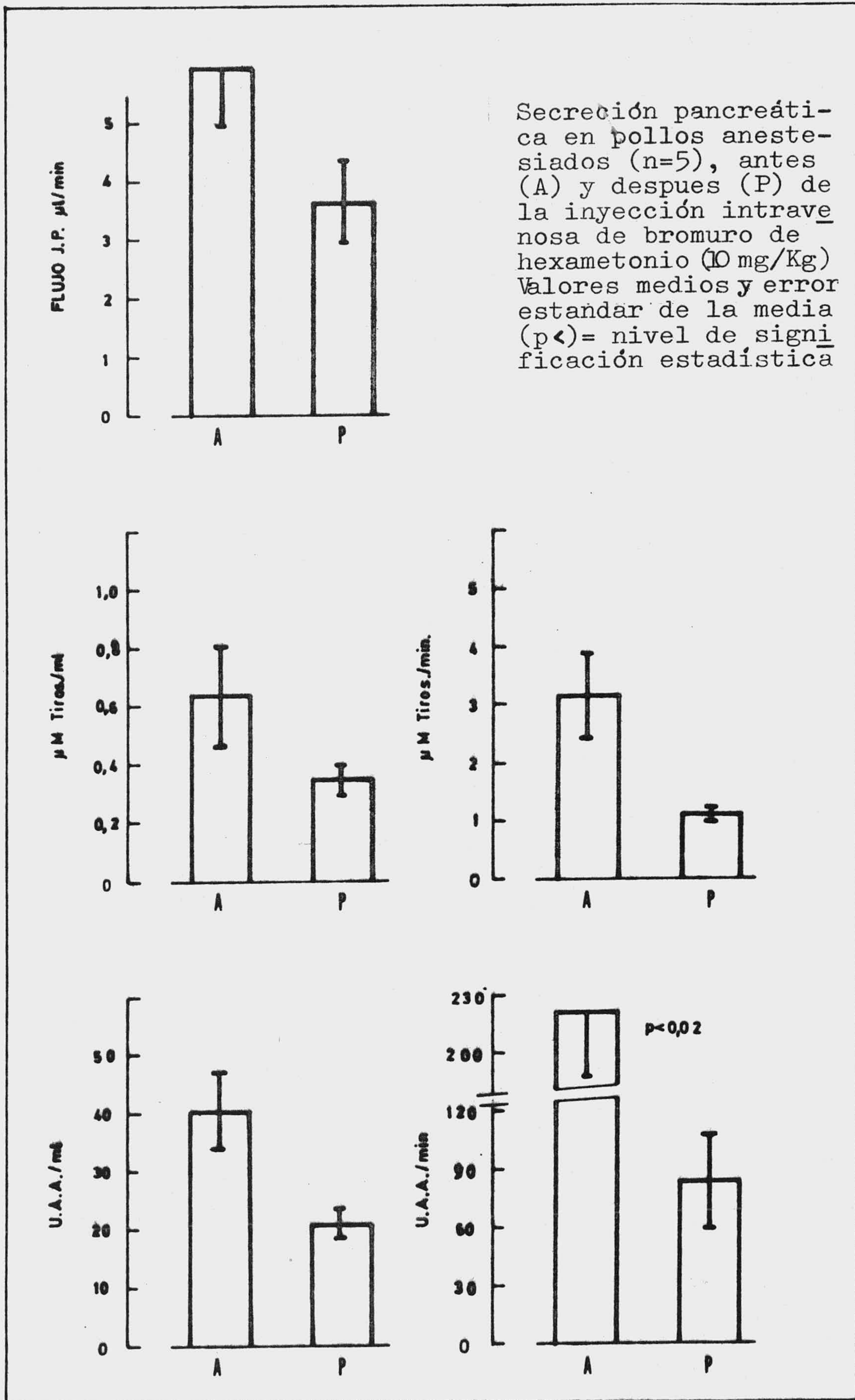


FIG. 3



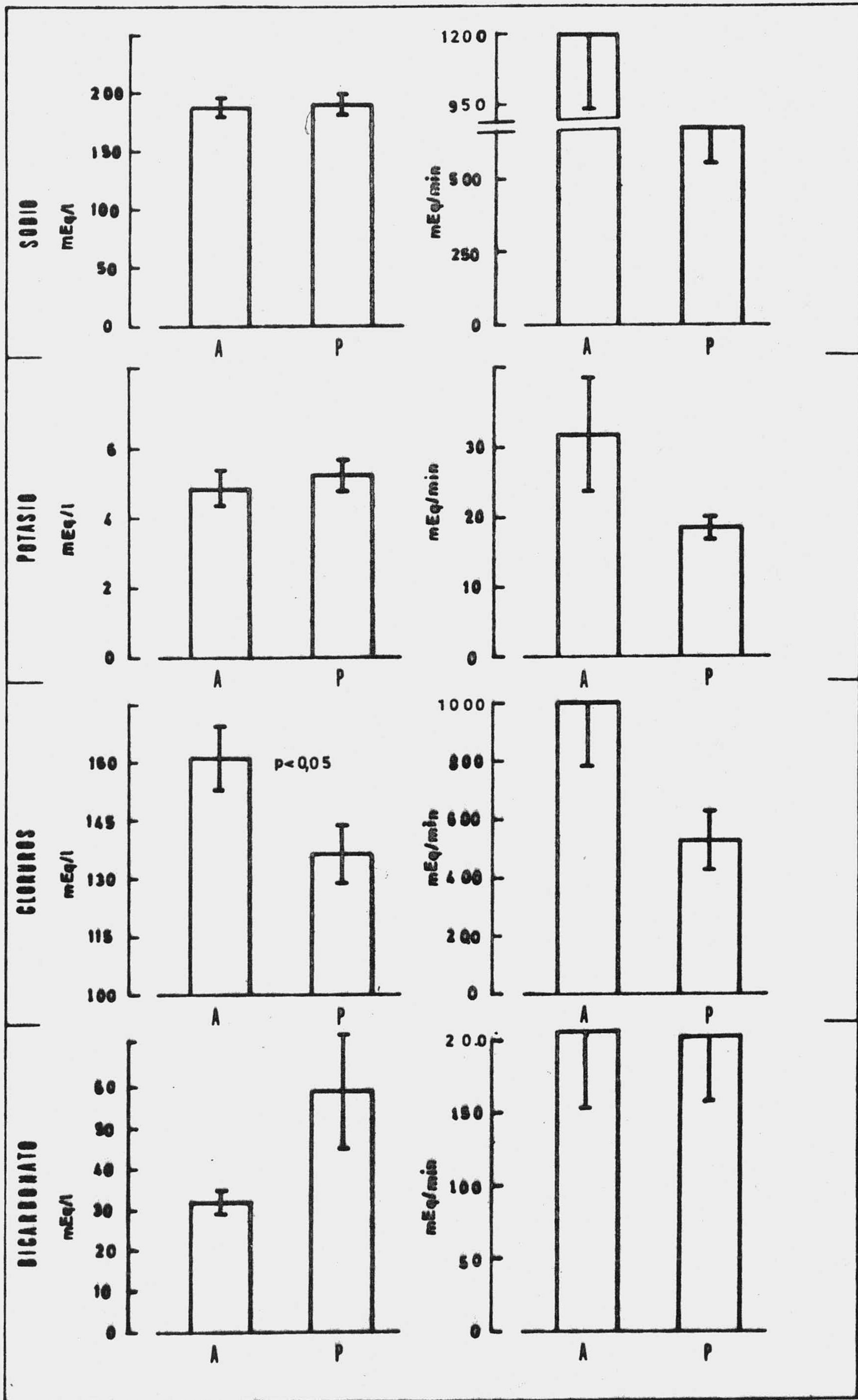
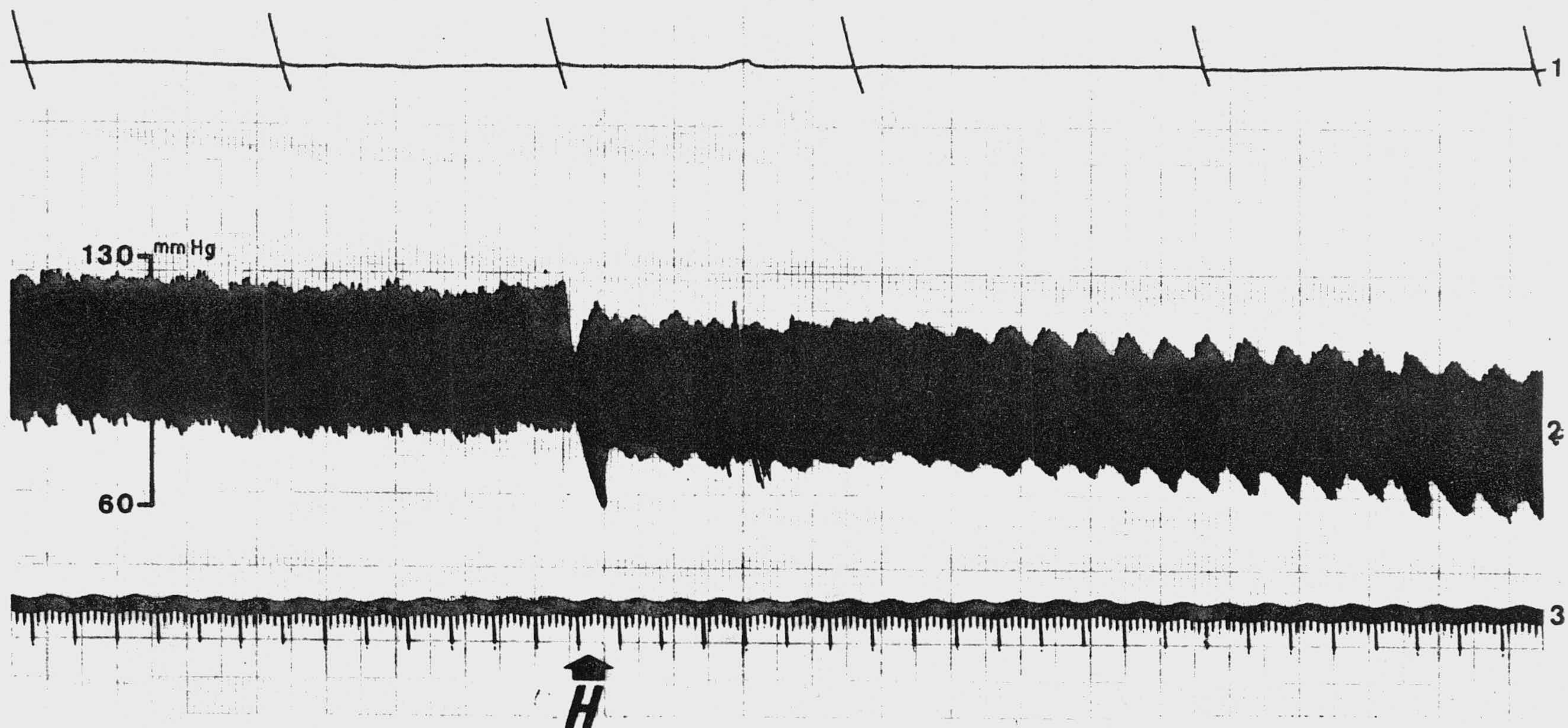


FIG.3 CONT.





REGISTRO 5: Efecto de la administración intravenosa de bromuro de hexametonio (10mg/Kg) (H), sobre el flujo de reposo de jugo pancreático (1) y sobre la presión arterial (2), en pollo anestesiado.



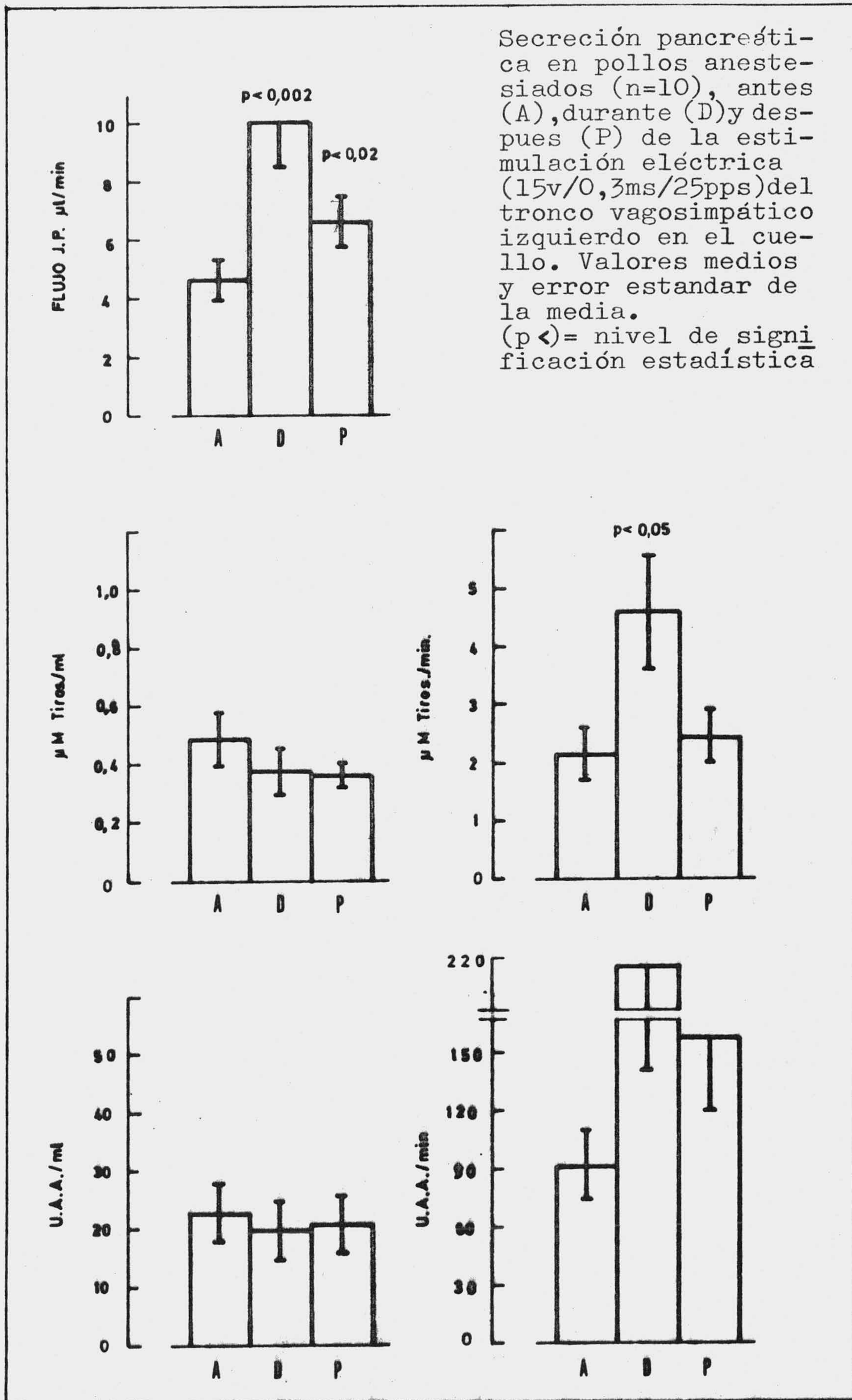
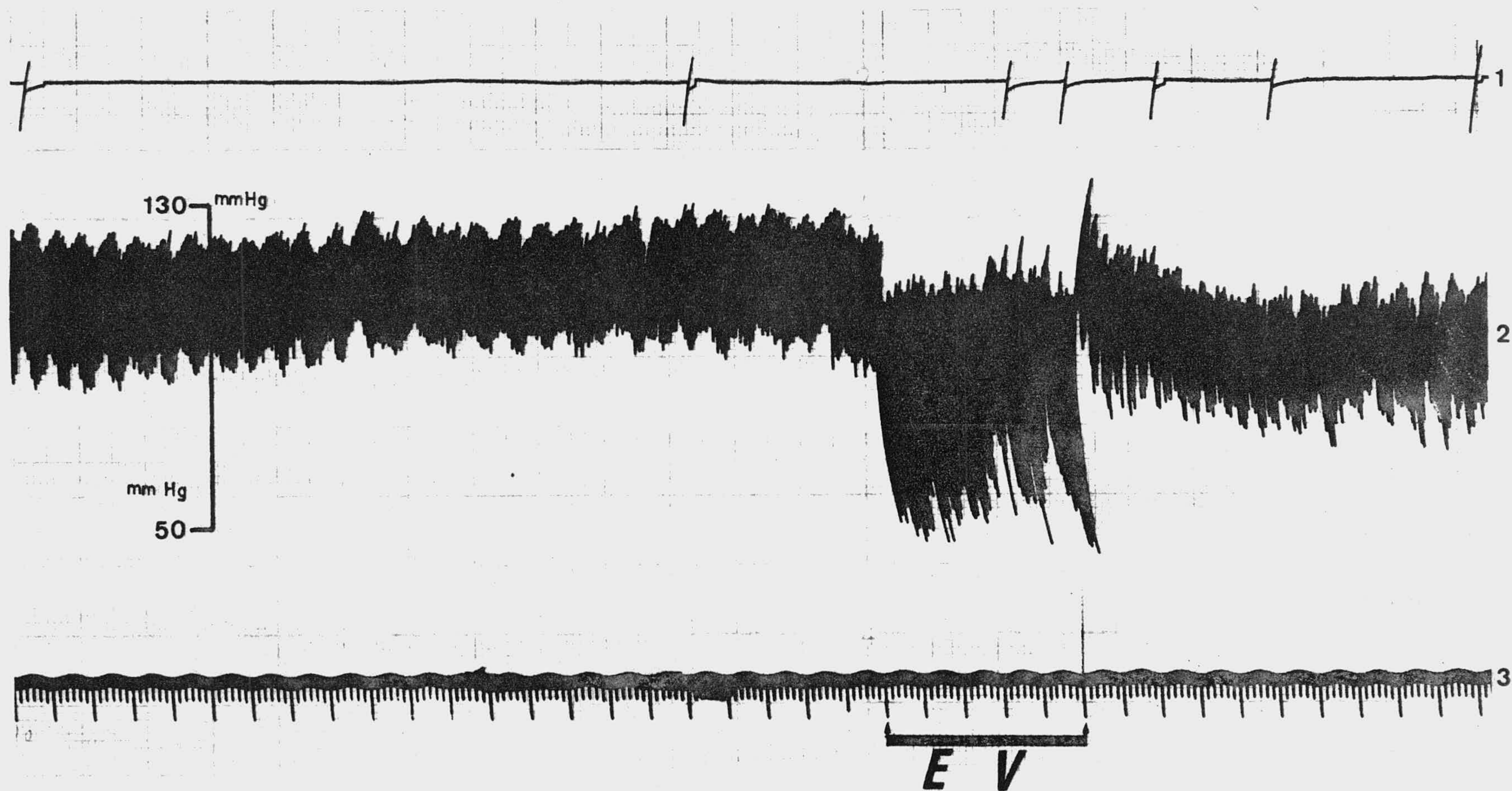


FIG. 4





REGISTRO 6: Efecto de la estimulación eléctrica del tronco vagosimpático izquierdo (15v/0,3ms/25pps) (EV), en el cuello, sobre el flujo de jugo pancreático (1) y sobre la presión arterial (2), en pollo anestesiado.



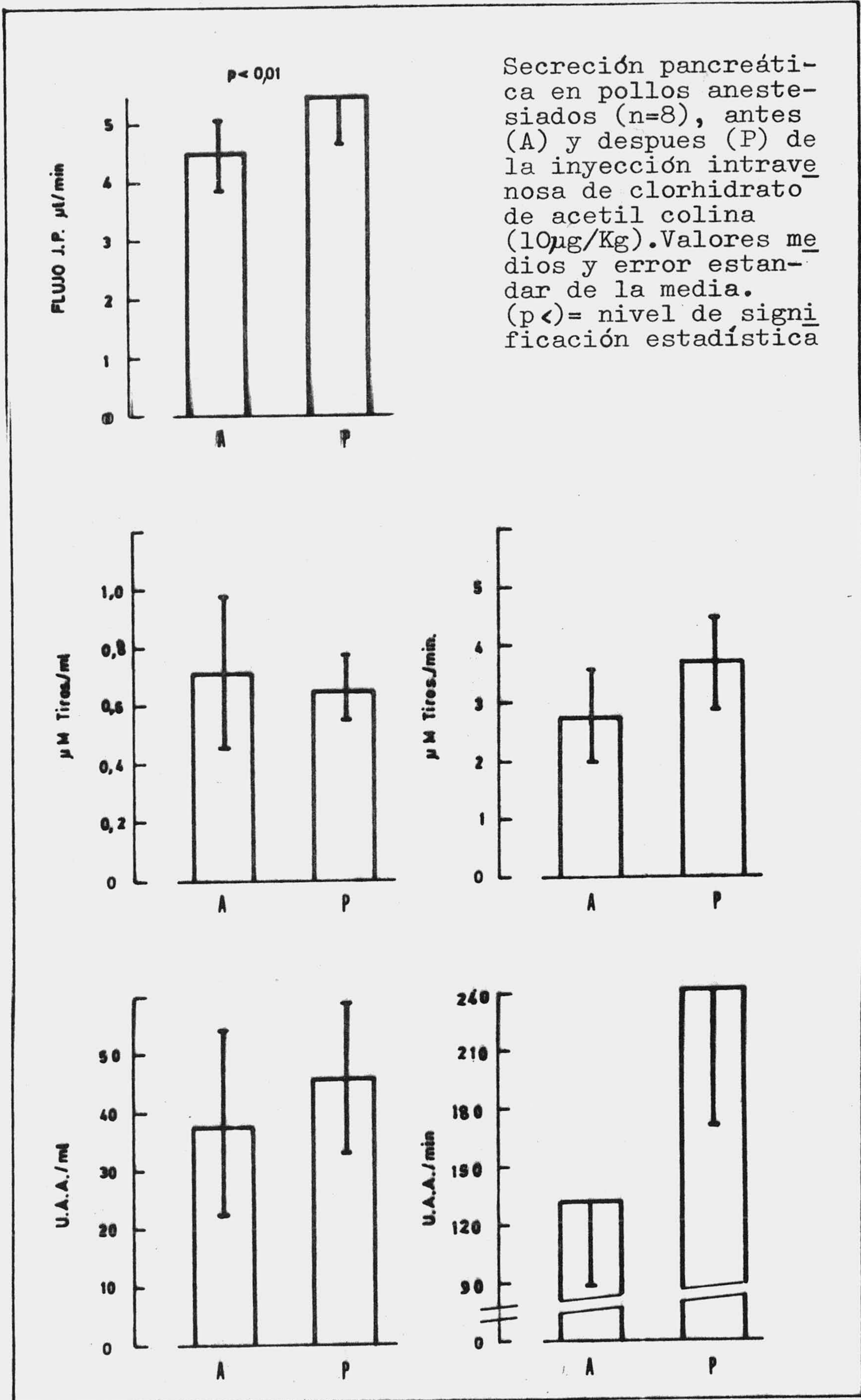


FIG. 5



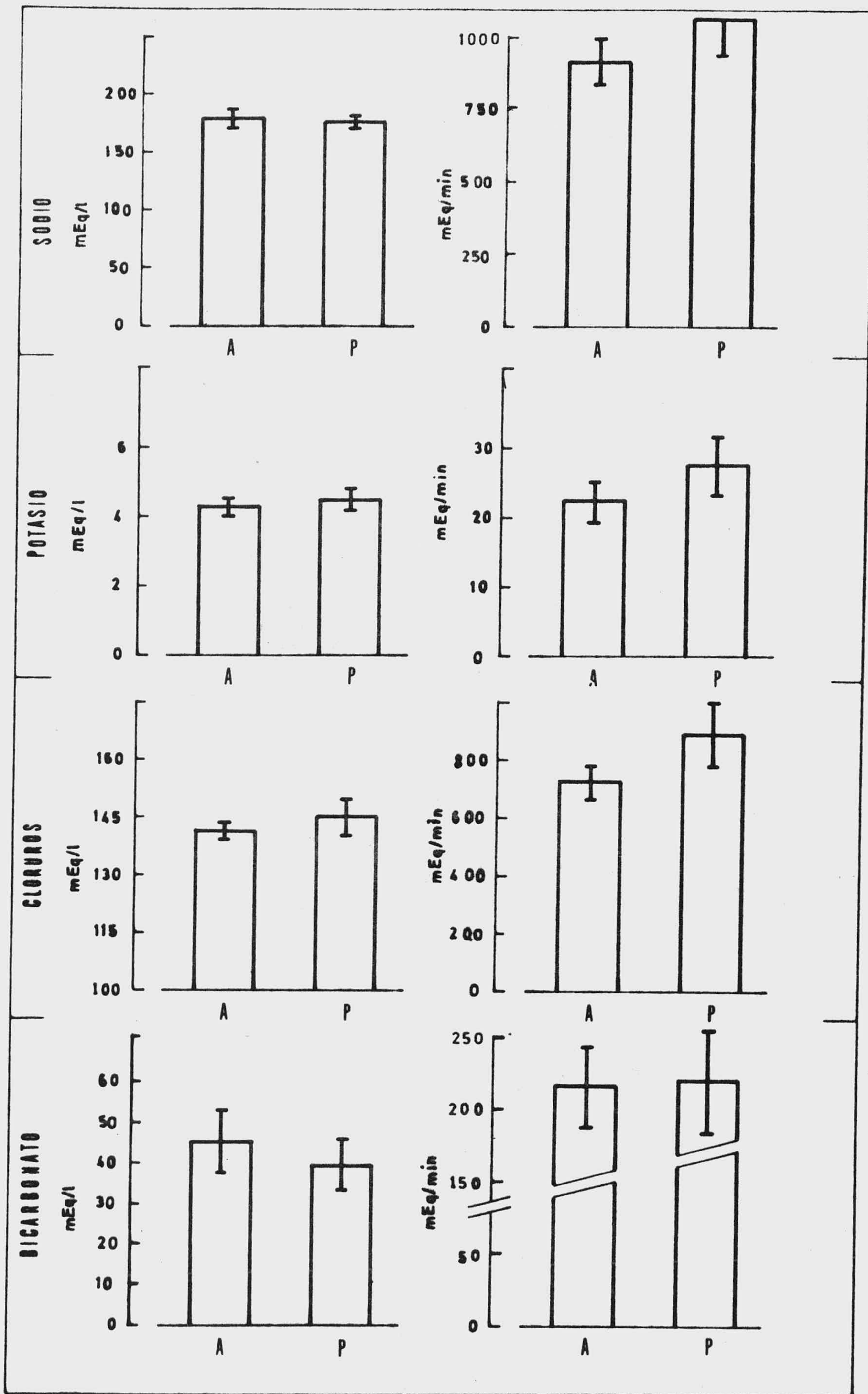
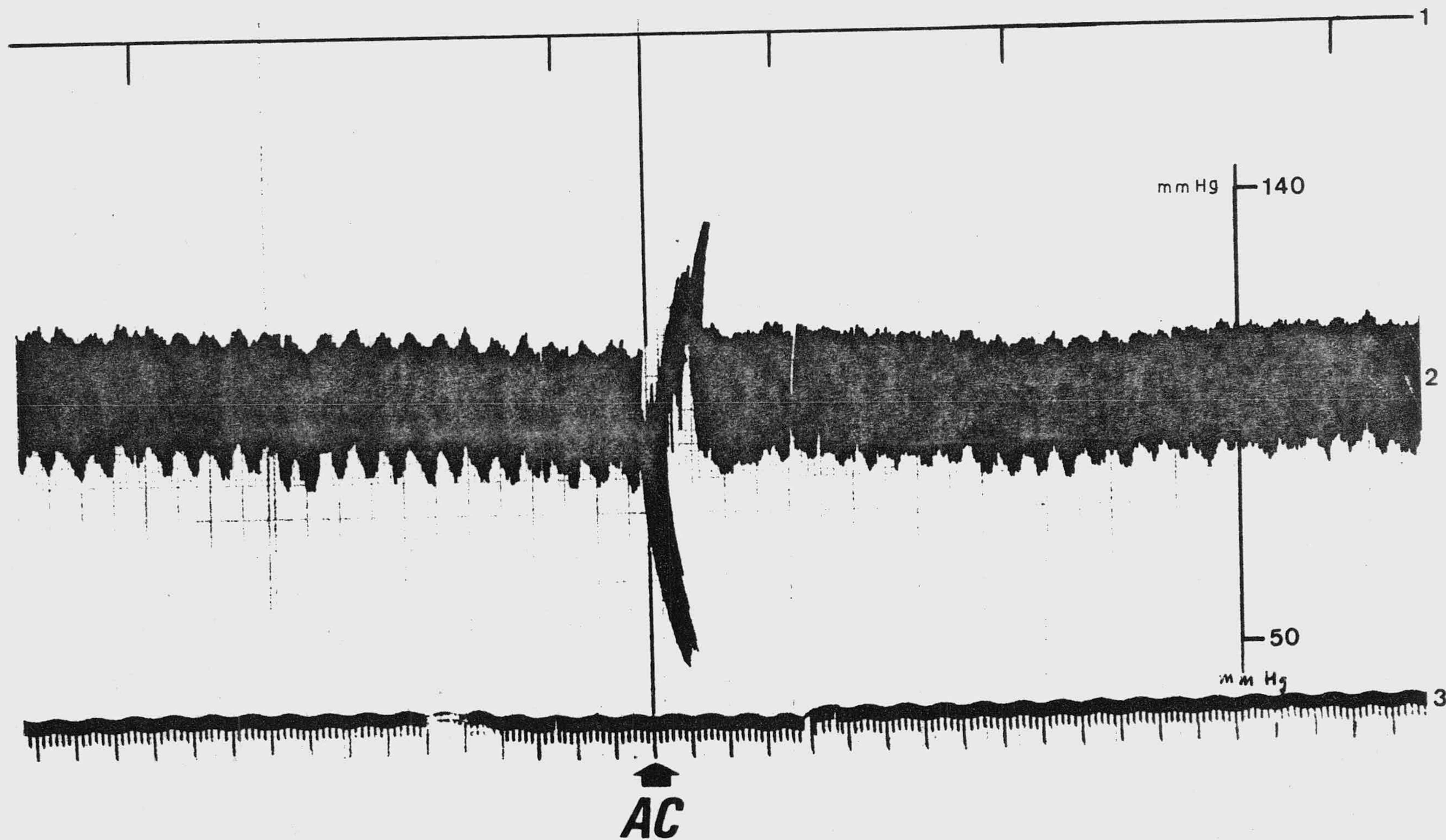


FIG. 5 CONT.





REGISTRO 7: Efecto de la administración intravenosa de clorhidrato de acetil colina (10 $\mu$ g/Kg) (AC), sobre el flujo de reposo de jugo pancreático (1) y sobre la presión arterial (2), en pollo anestesiado.



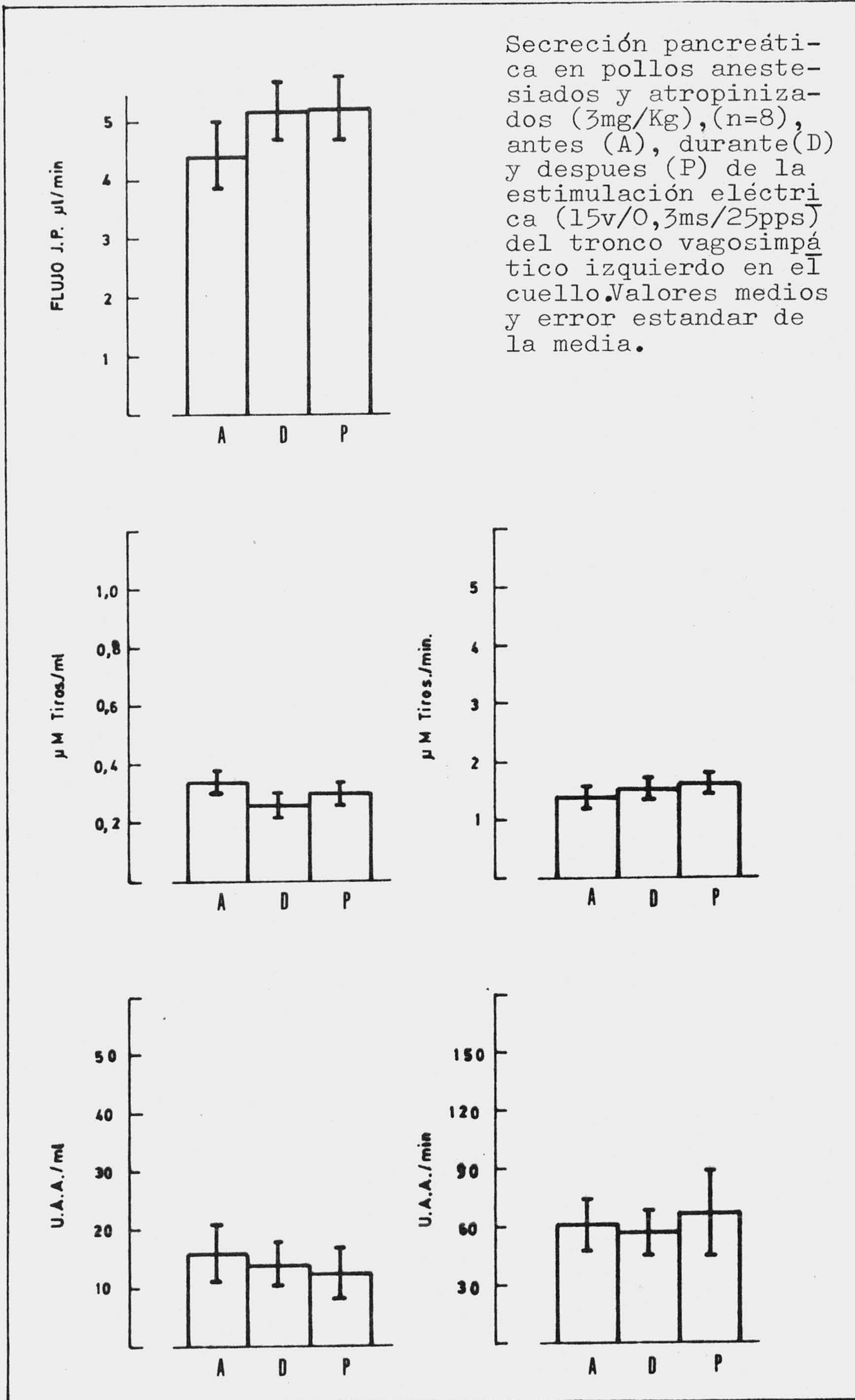
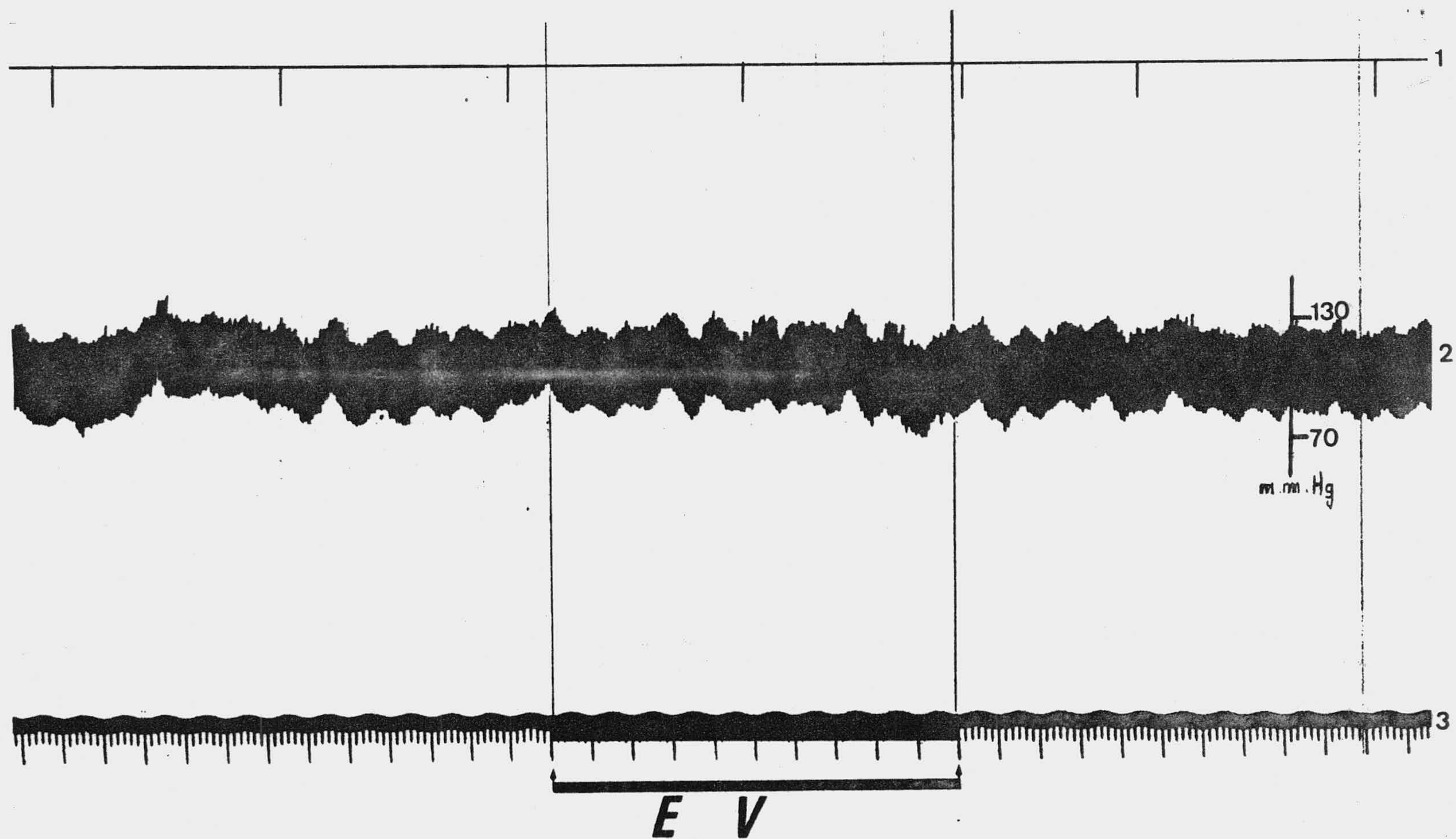


FIG. 6







REGISTRO 8: Efecto de la estimulación eléctrica del tronco vagosimpático izquierdo (15v/0,3ms/25pps) (EV), en el cuello, sobre el flujo de jugo pancreático (1) y sobre la presión arterial (2) en pollo anestesiado y atropinizado (3mg/Kg).



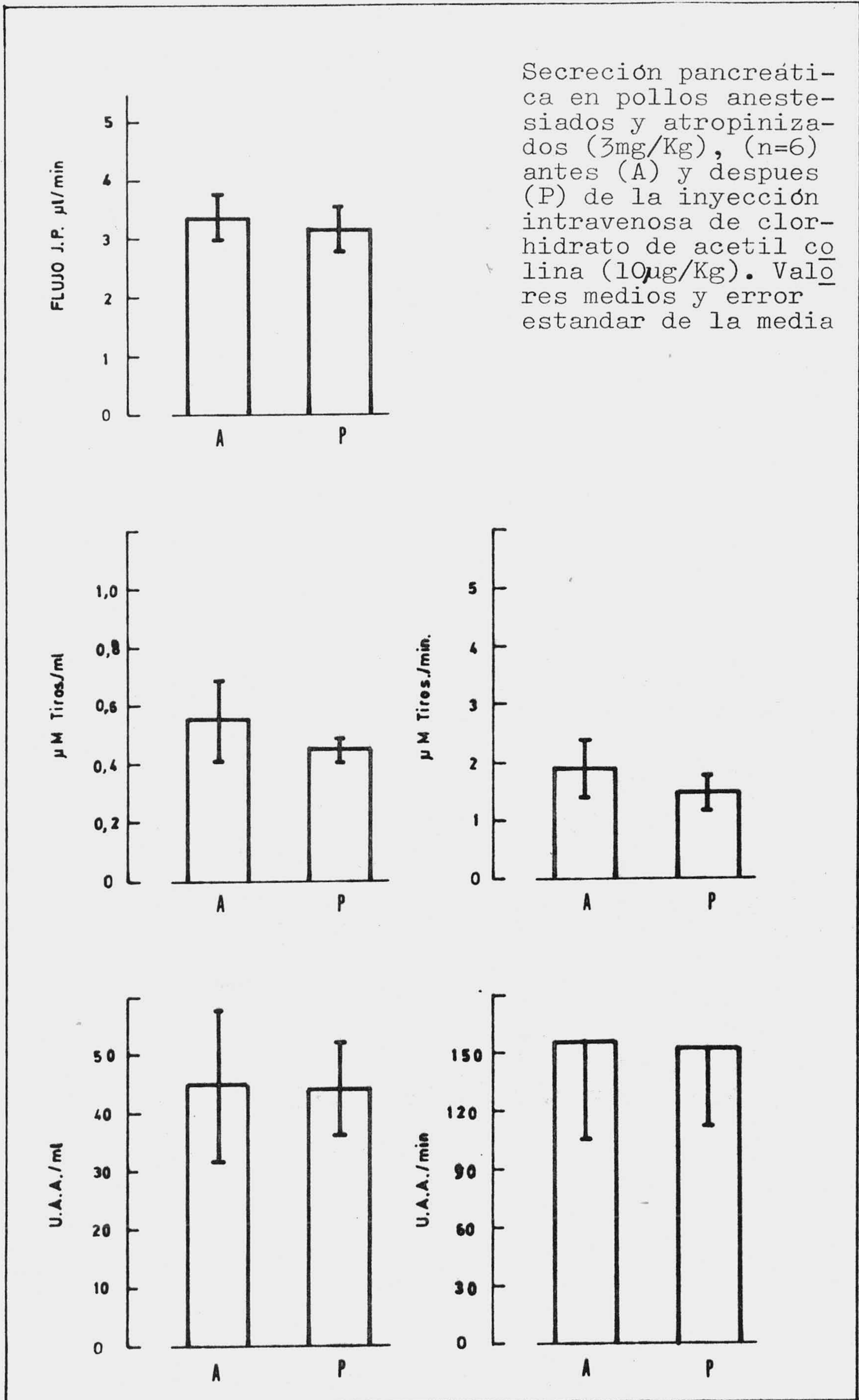


FIG 7



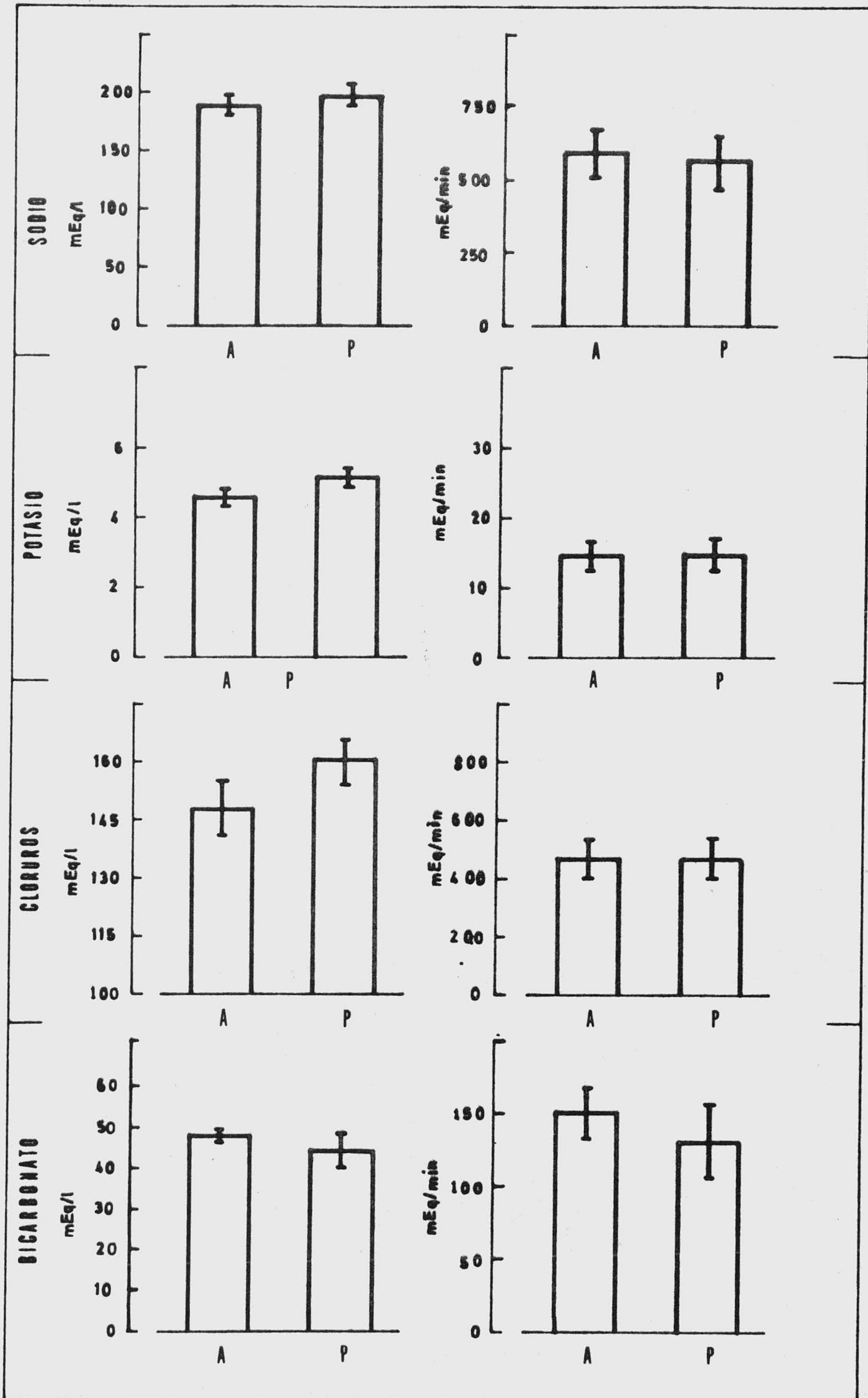


FIG 7 CONT



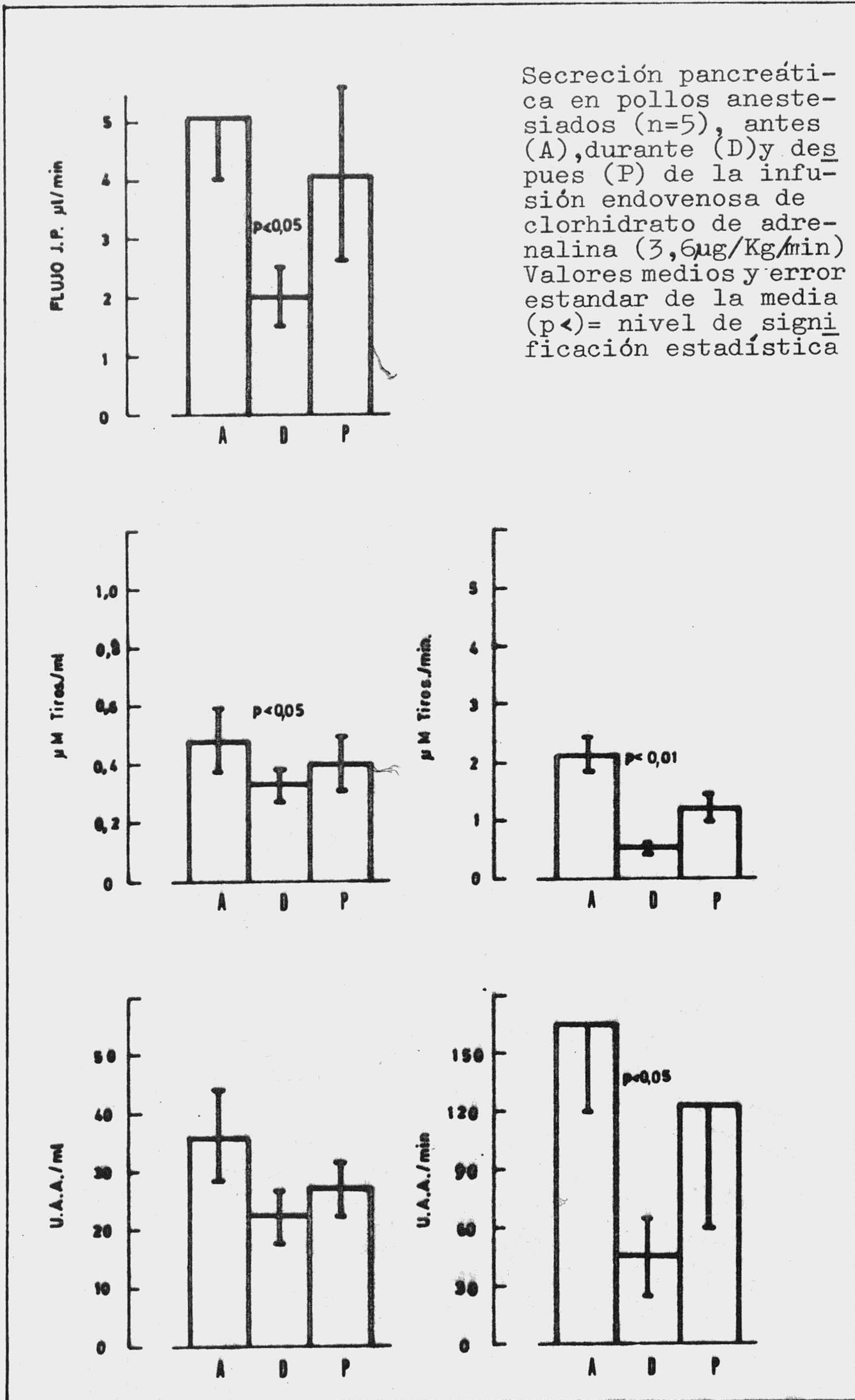


FIG. 8



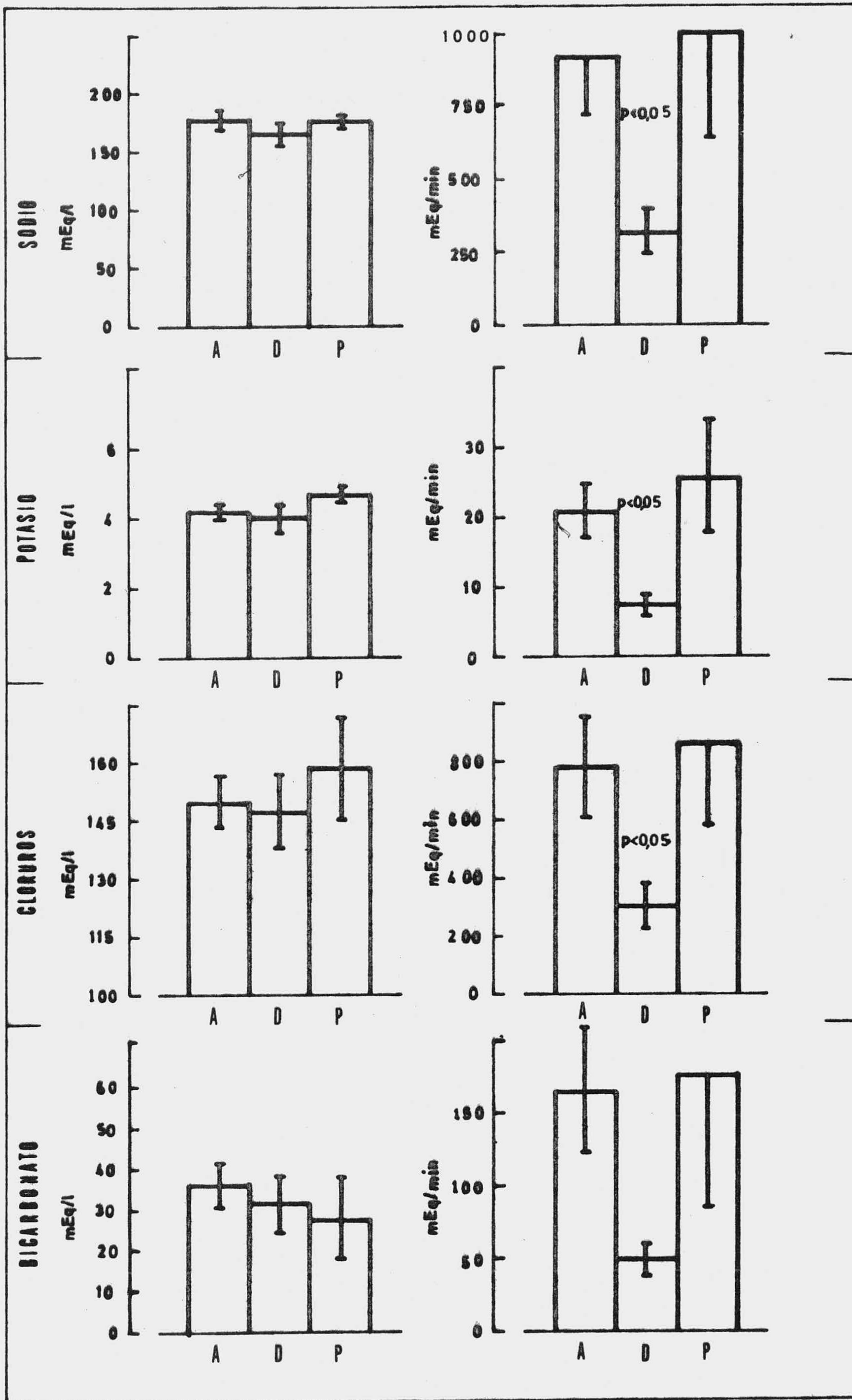
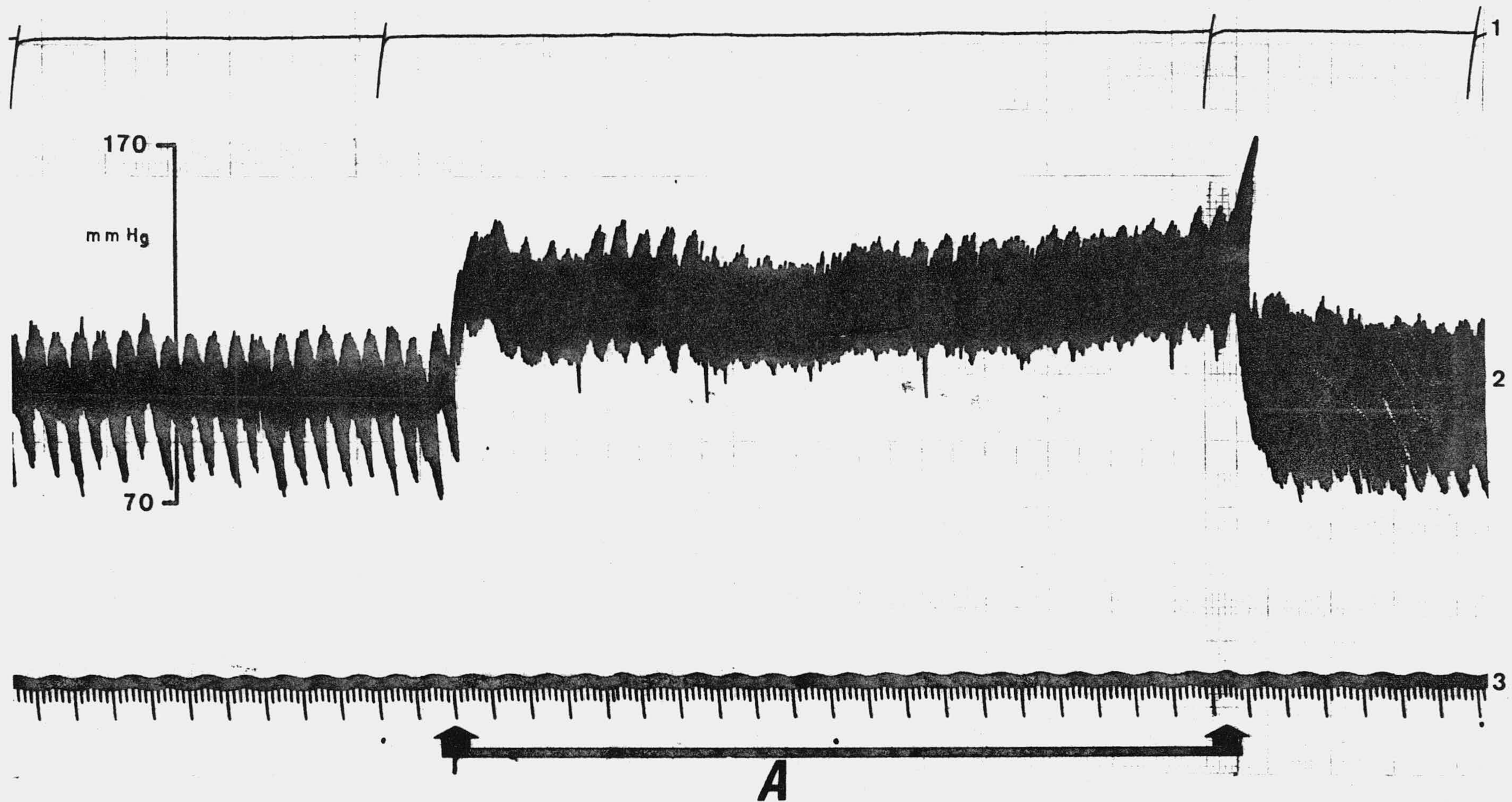


FIG. 8 CONT.





REGISTRO 9: Efecto de la infusión intravenosa de clorhidrato de adrenalina ( $3,6\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$ ) (A) sobre el flujo de reposo de jugo pancreático (1) y sobre la presión arterial (2), en pollo anestesiado.



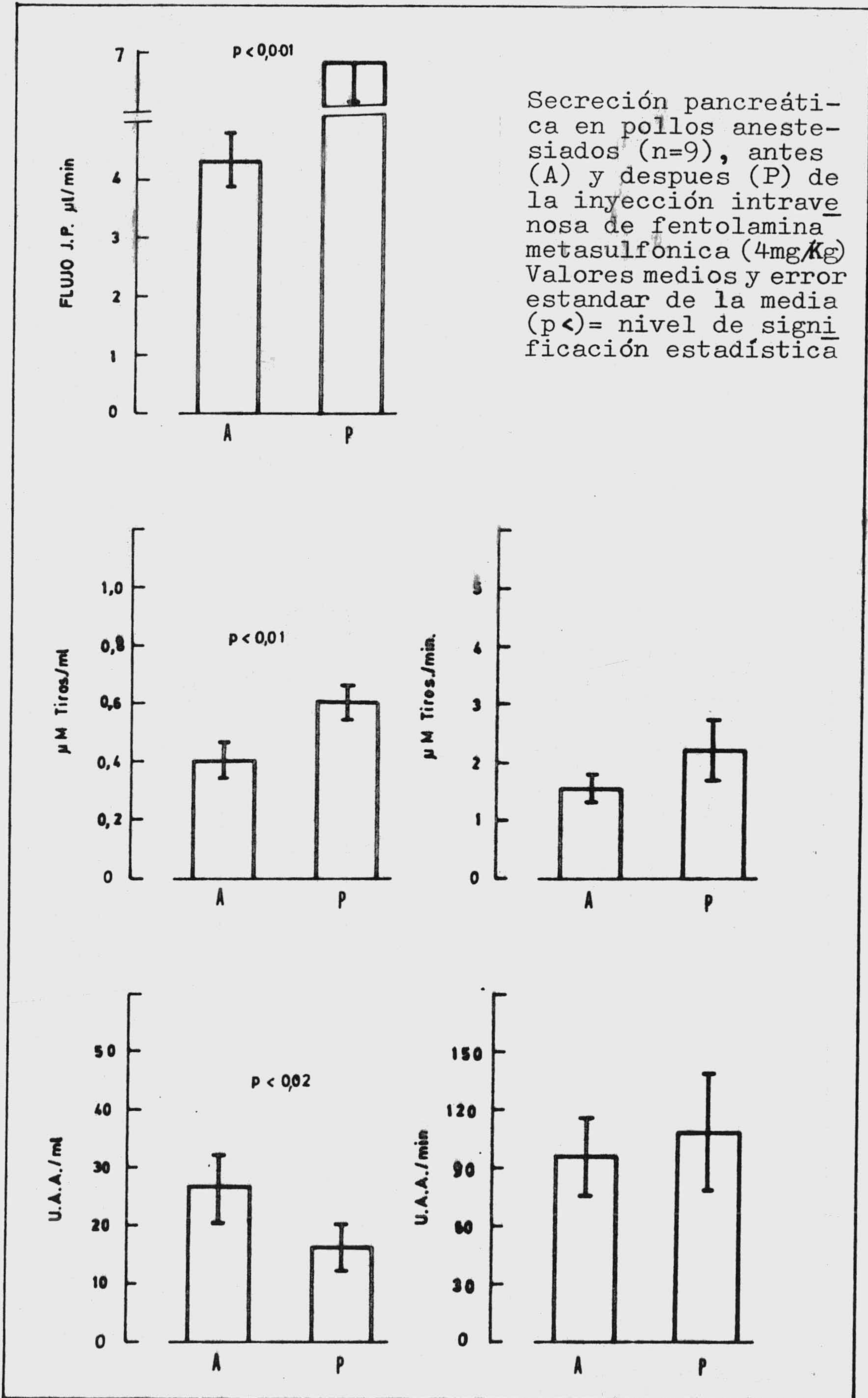


FIG. 9



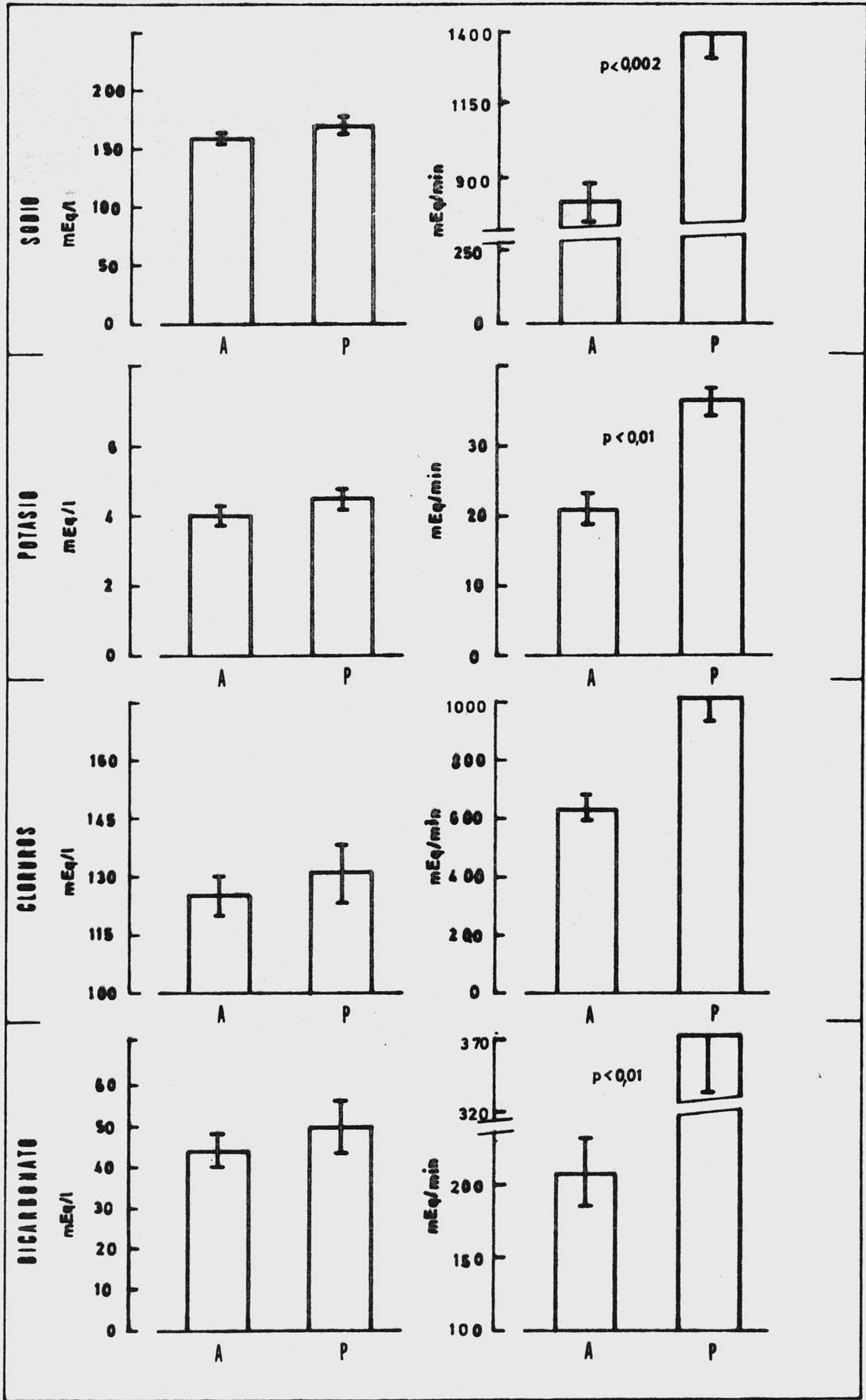
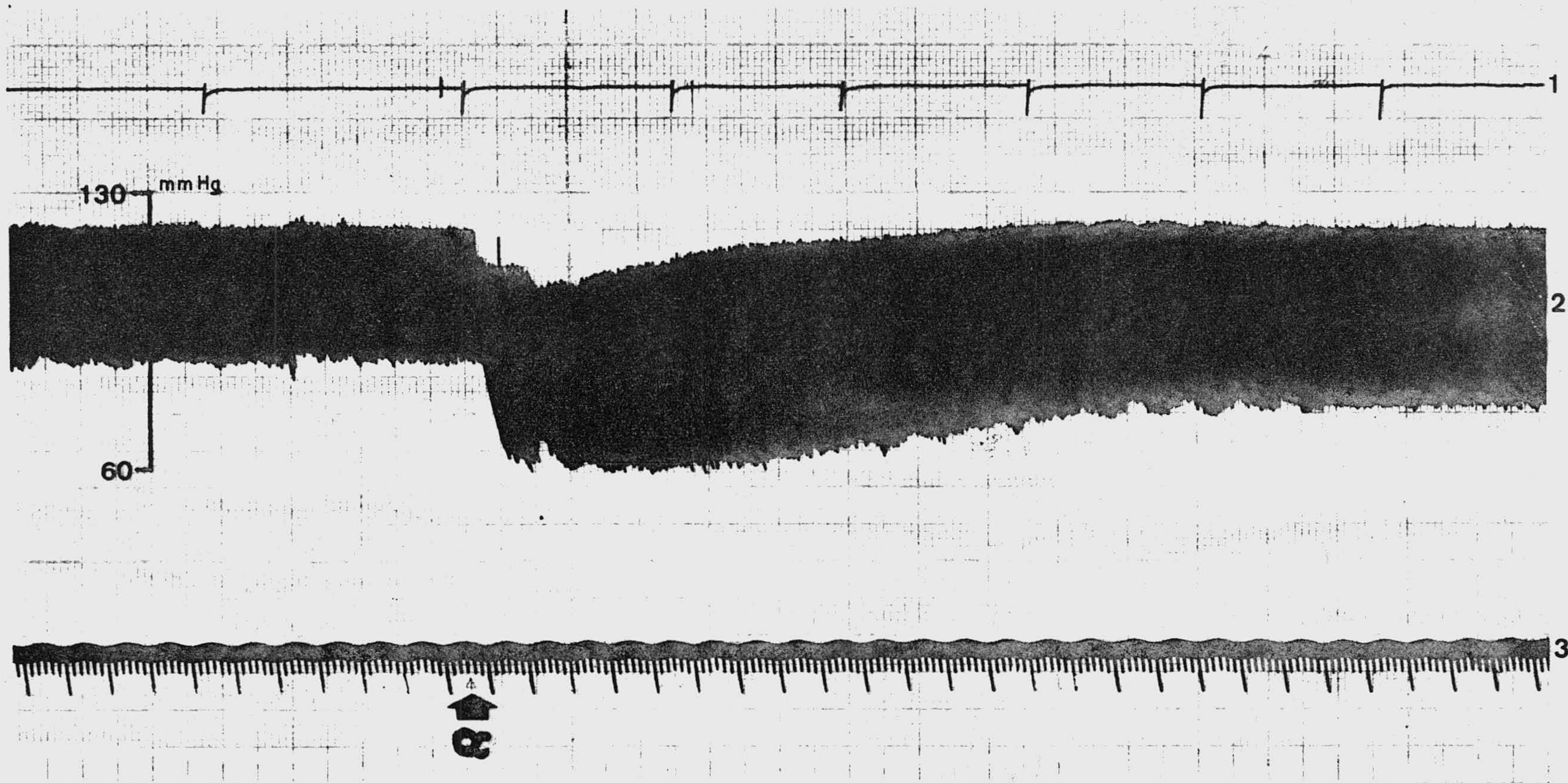


FIG. 9 CONT.







REGISTRO 10: Efecto de la administración intravenosa de fentolamina metasulfónica (4mg/Kg) ( $\alpha$ ), sobre el flujo de reposo de jugo pancreático (1) y sobre la presión arterial, (2) en pollo anestesiado.



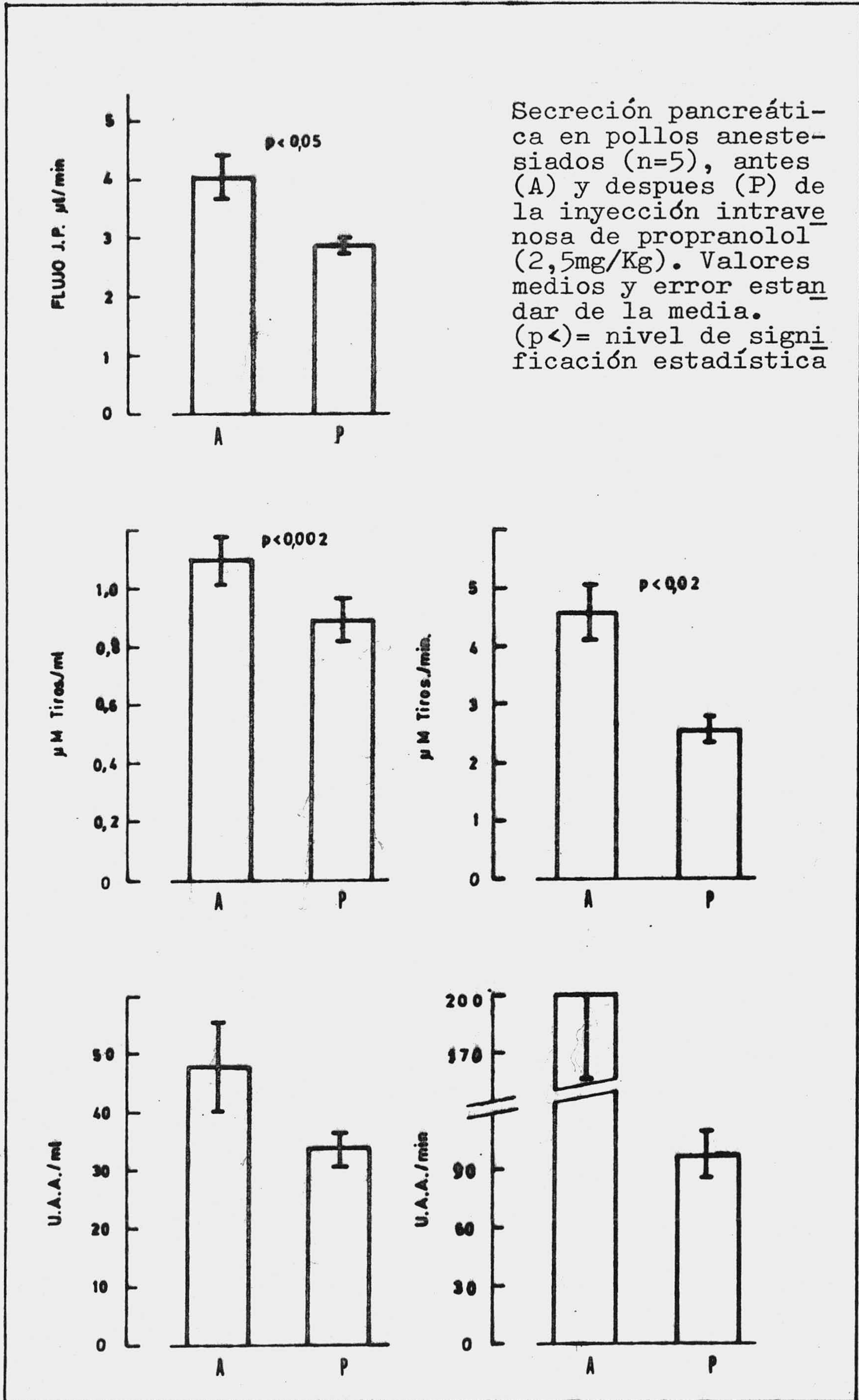


FIG.10



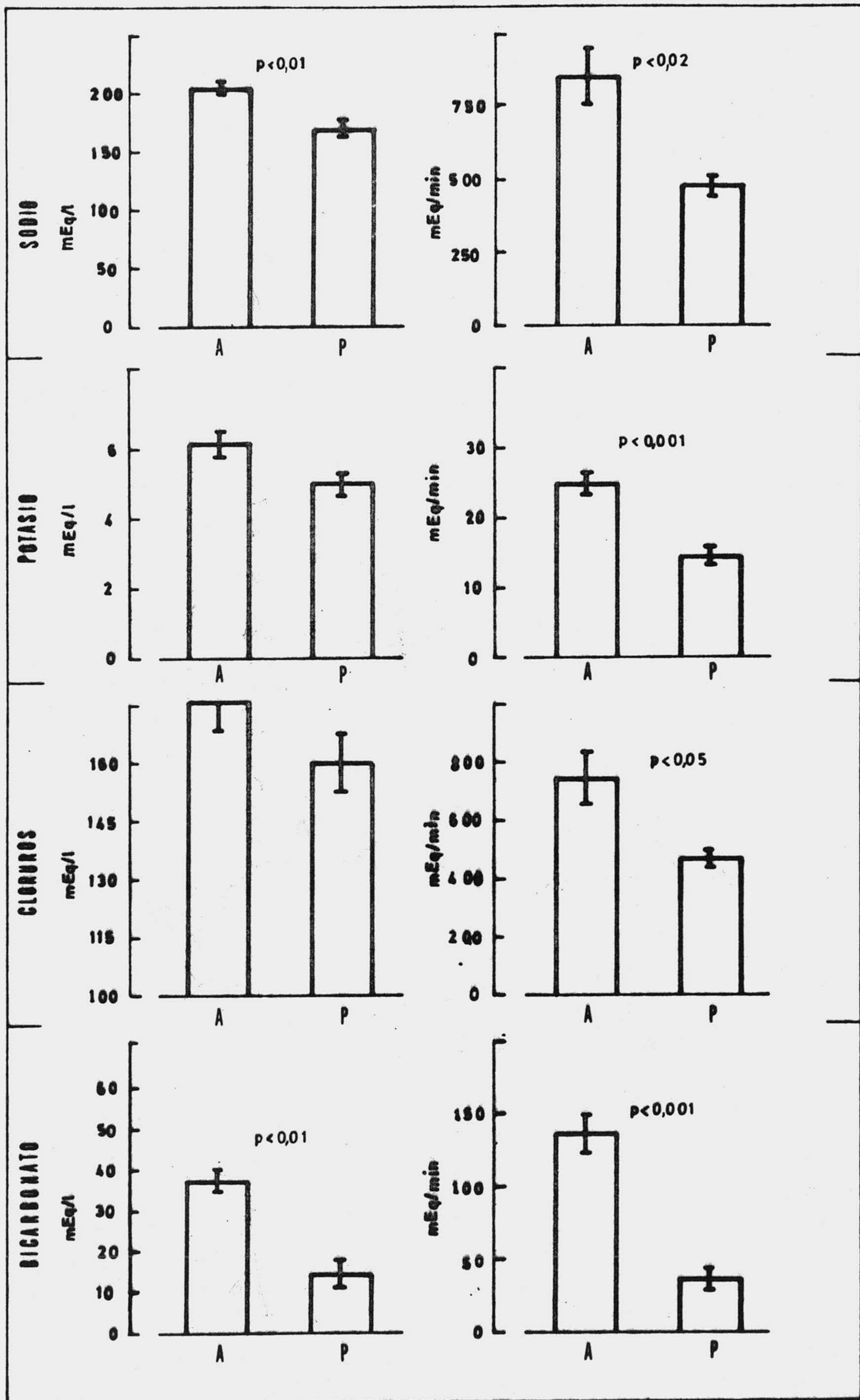
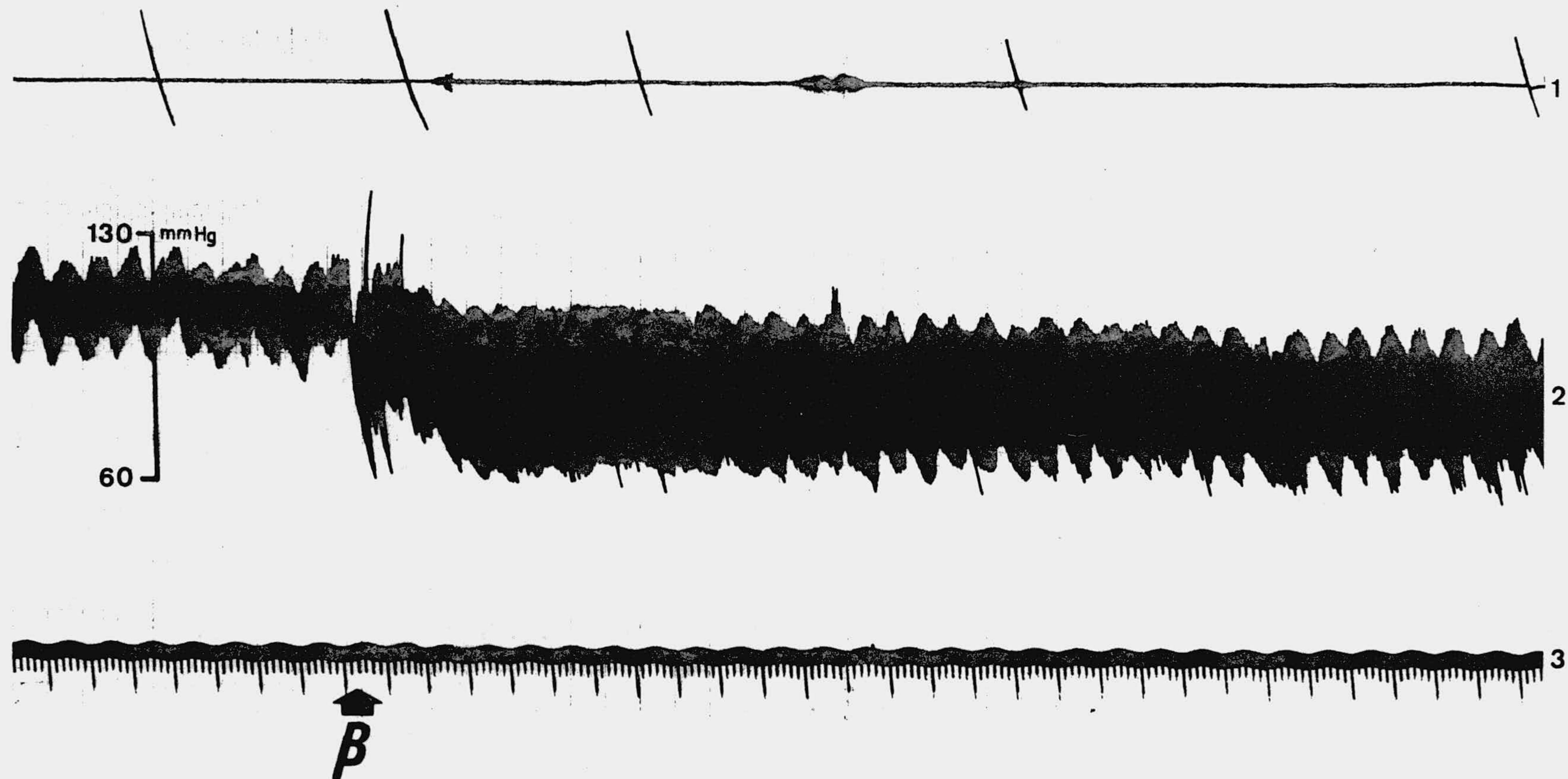


FIG.10 CONT.





REGISTRO 11: Efecto de la administración intravenosa de propranolol (2,5mg/Kg) ( $\beta$ ), sobre el flujo de reposo de jugo pancreático (1) y sobre la presión arterial (2), en pollo anestesiado.



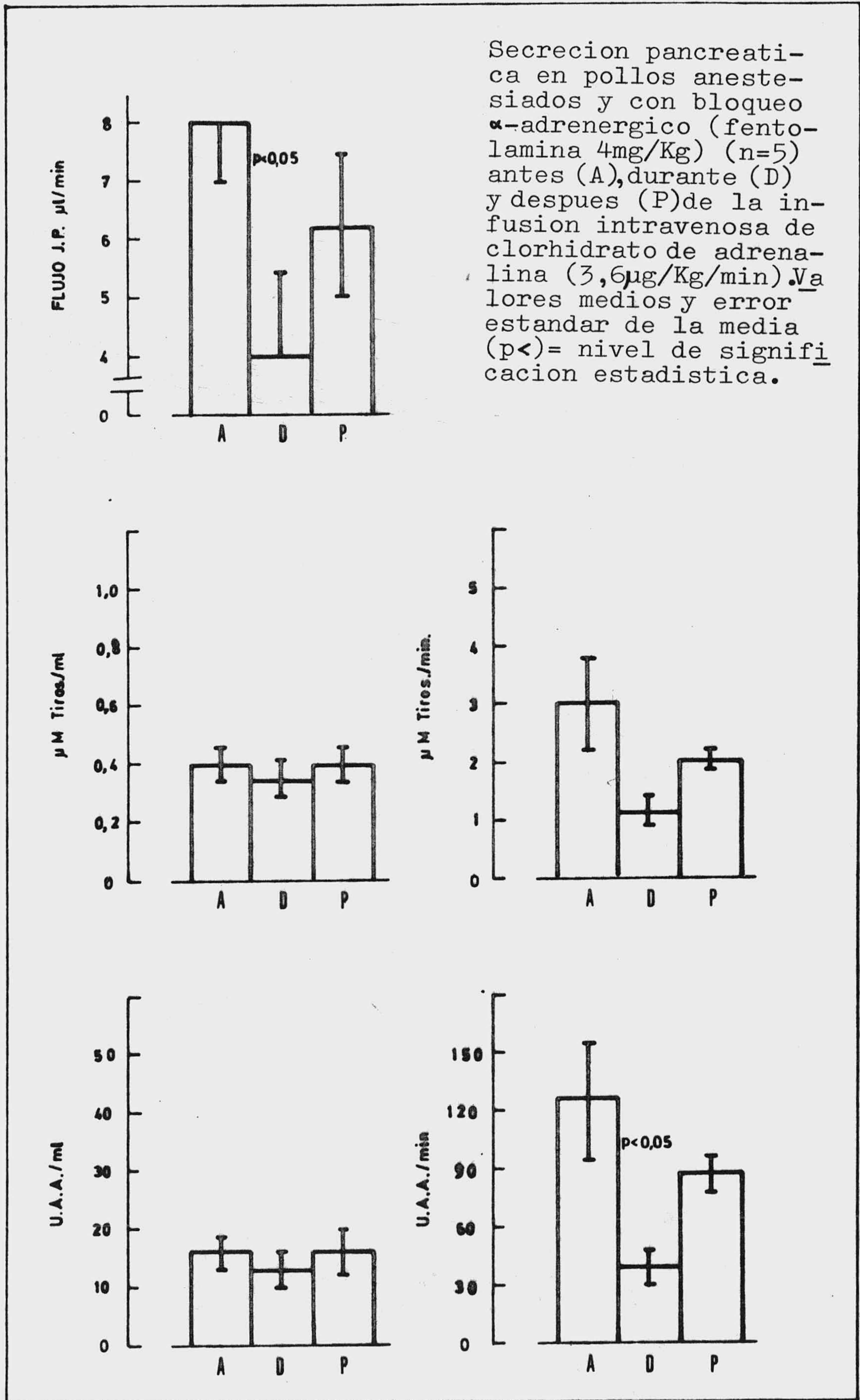
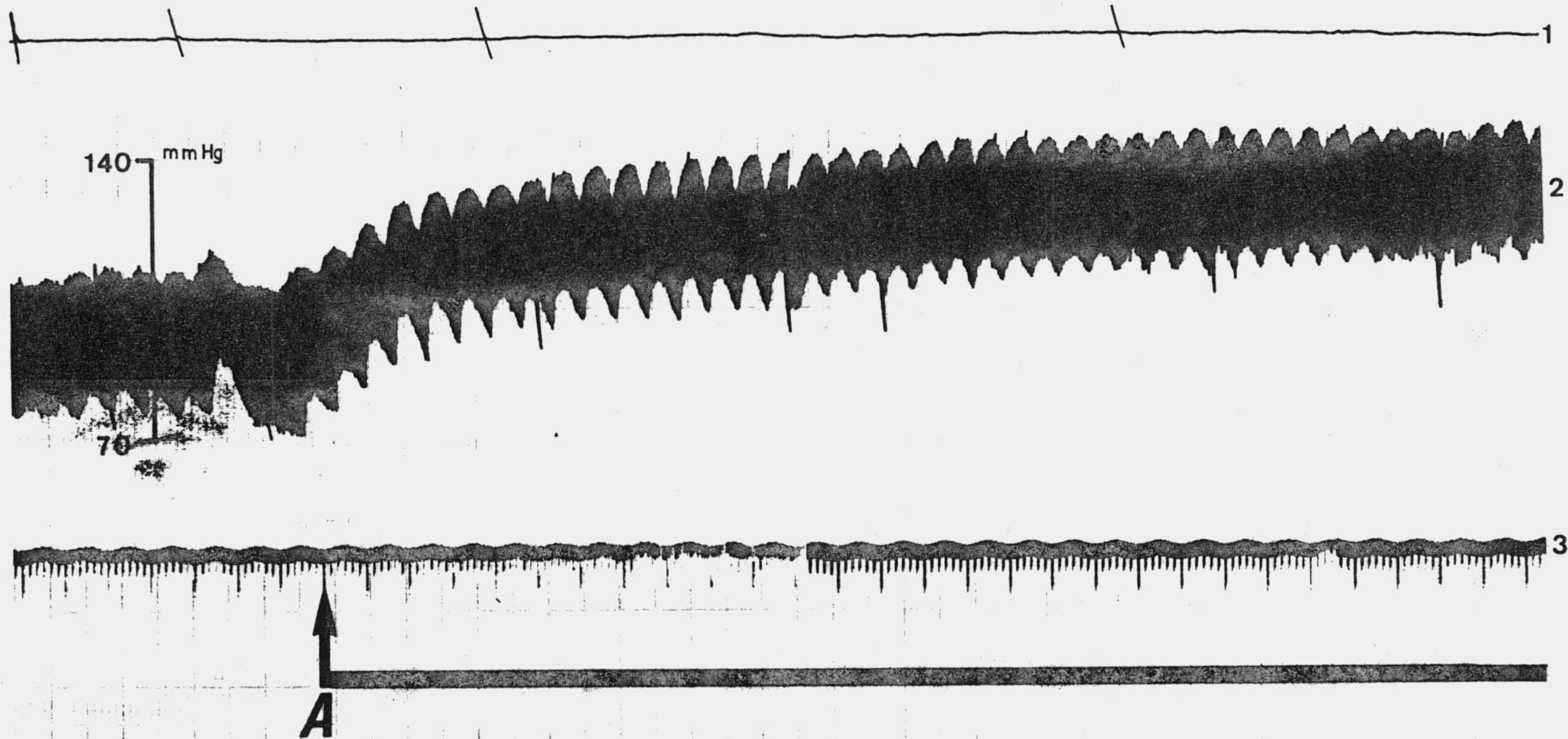


FIG. 11





REGISTRO 12: Efecto de la infusion intravenosa de clorhidrato de adrenalina (3,6 $\mu$ g/Kg/min) (A), sobre el flujo de jugo pancreatico (1) y sobre la presion arterial (2), en pollo anestesiado y con bloqueo  $\alpha$ -adrenergico (fentolamina 4mg/Kg).



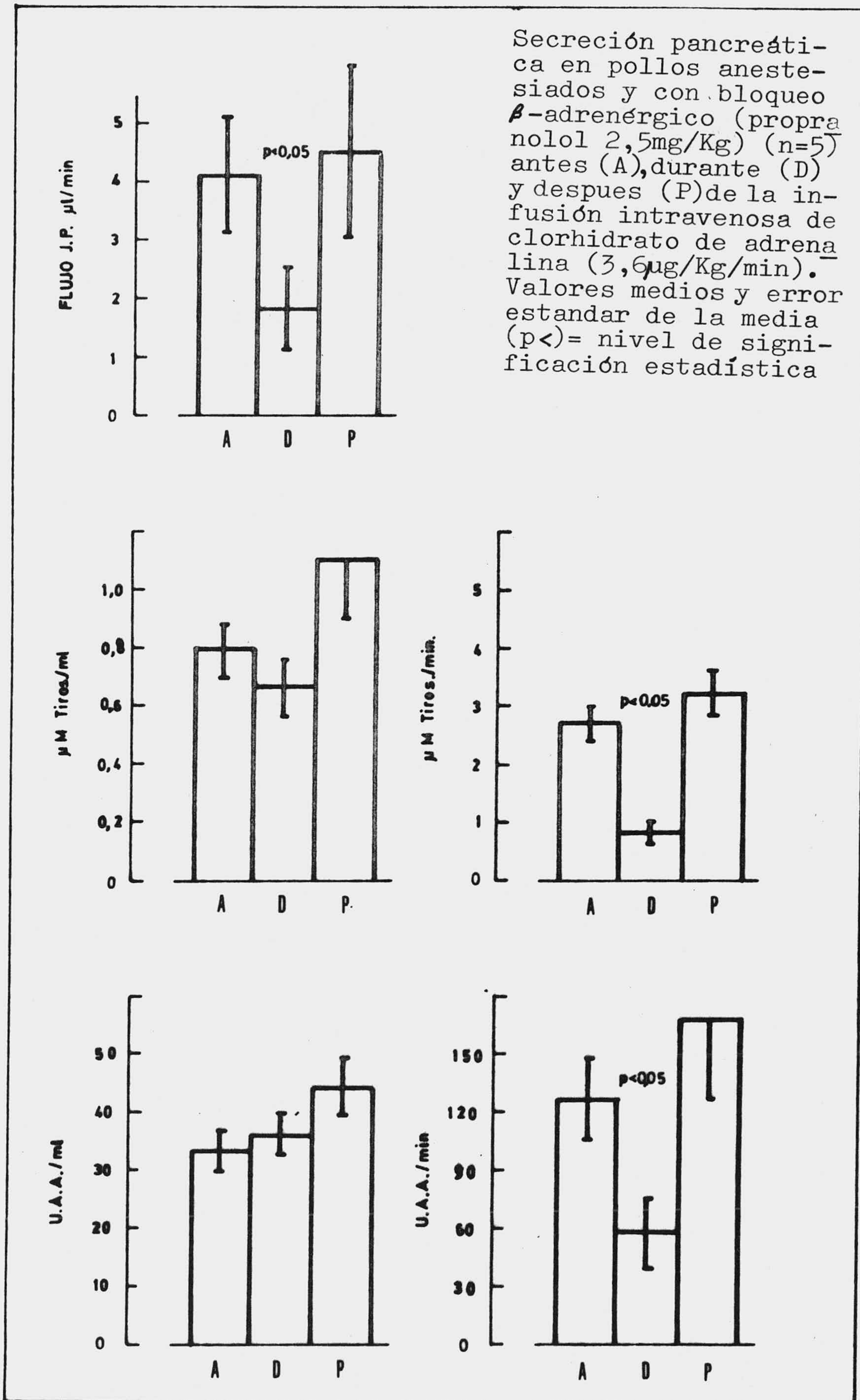


FIG. 12



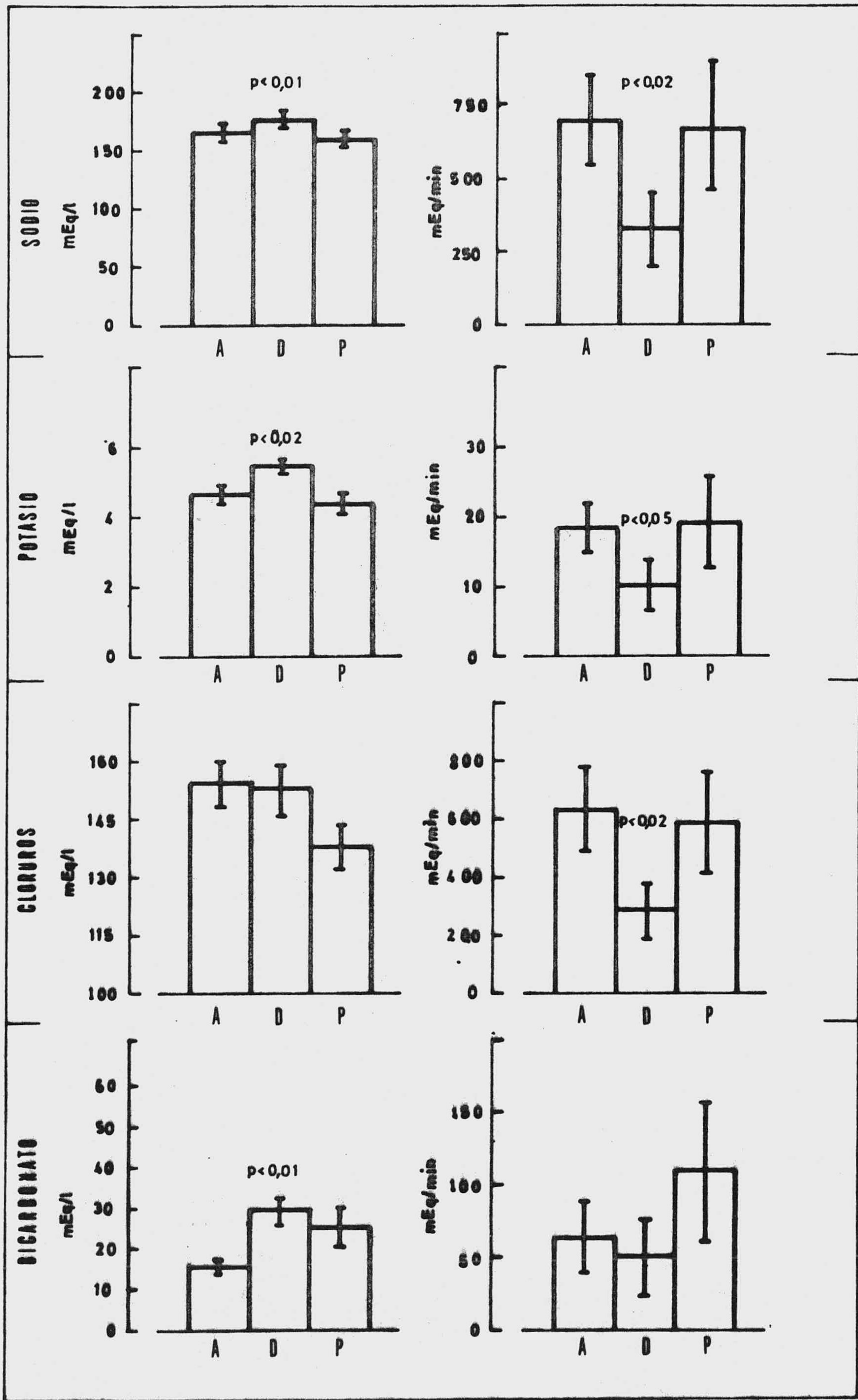
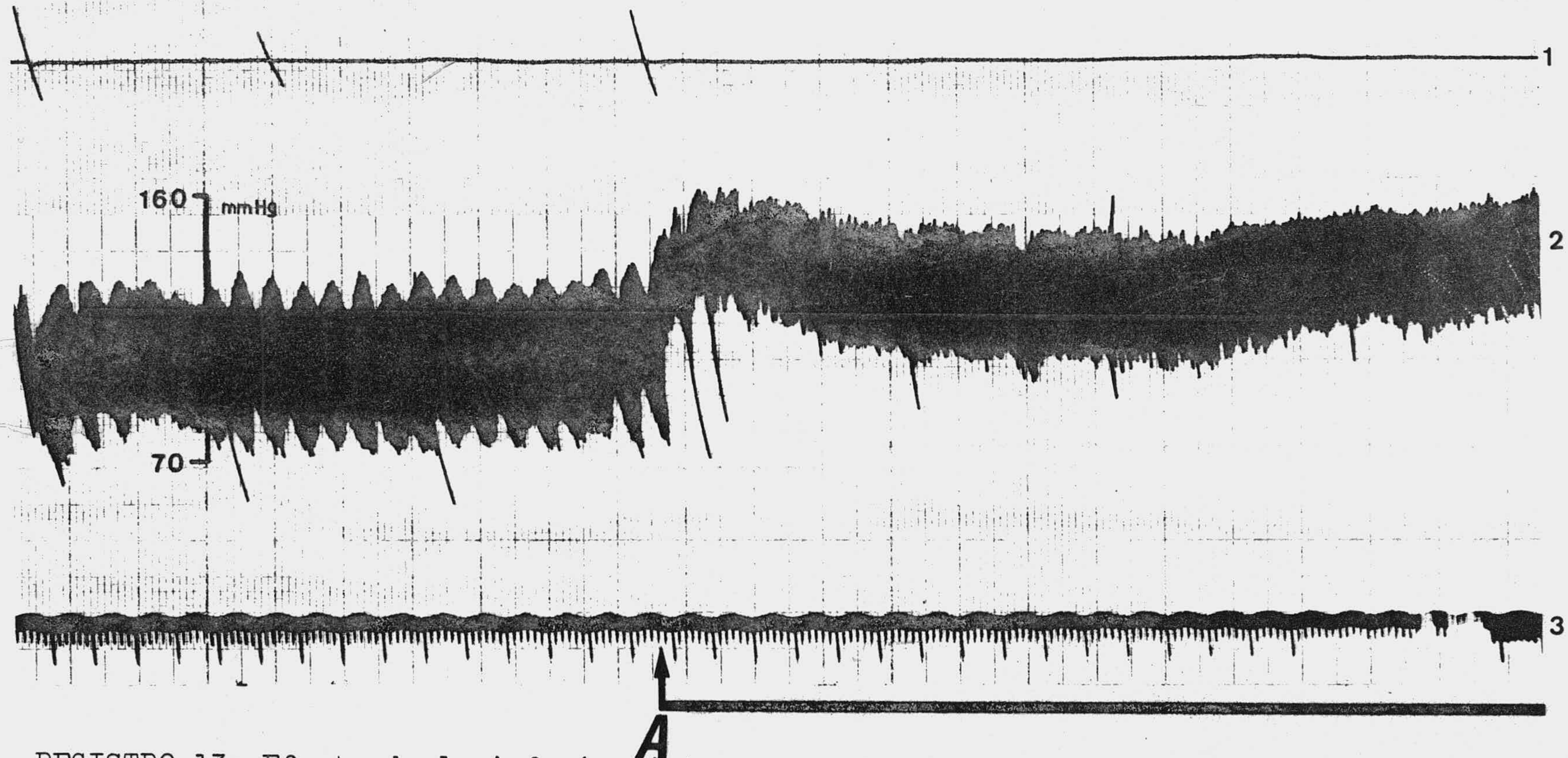


FIG. 12 CONT.





REGISTRO 13: Efecto de la infusion intravenosa de clorhidrato de adrenalina (3,6 $\mu$ g/Kg/min) (A), sobre el flujo de jugo pancreatico (1) y sobre la presion arterial (2), en pollo anestesiado y con bloqueo  $\beta$ -adrenergico (propranolol 2,5mg/Kg).



ANIMAL N°	FLUJO J P μl/min.	PROT. TOTALES		AMILASA	
		CON. μM Tiros/ml	PROD. μM Tiros/min	CON. U.A.A/ml	PROD. U.A.A/min
150	4,70	1,56	7,33*	-	-
151	5,03	0,84	4,22	-	-
152	5,70	1,88	10,72	-	-
153	3,12	2,08	6,49	-	-
154	8,83	1,03	9,08	27,54	243,18
155	9,36	-	-	43,35	405,76
156	19,13	3,33	63,66	33,20	635,12
157	10,82	2,84	30,73	33,20	359,22
158	9,93	2,85	28,28	10,89	108,14
159	13,07	2,70	35,24	8,22	107,43
160	5,83	1,63	9,51	77,02	449,03
161	6,31	1,05	6,61	17,25	108,85
162	10,38	2,80	29,06	94,10	976,76
163	5,08	-	-	85,97	436,73
164	8,90	1,94	17,03	46,30	412,07
165	7,20	1,78	12,84	50,19	361,37
166	6,09	4,92	29,96	-	-
167	9,57	5,03	48,14	-	-

ANIMAL N°	FLUJO J P μl/min.	PROT. TOTALES		AMILASA		CONDIC.
		CON. μM Tiros/ml	PROD. μM Tiros/min	CON. U.A.A/ml	PROD. U.A.A/min	
168	7,57	4,50	34,06*	-	-	
169	6,13	5,53	33,89	-	-	
170	13,77	2,62	36,13	-	-	
171	8,33	2,34	19,46	-	-	
172	4,72	1,46	6,91	-	-	
173	2,35	1,46	3,44	-	-	
174	7,38	0,46	3,36	-	-	
175	5,53	0,35	1,95	-	-	
176	8,25	1,49	12,28	-	-	
177	15,56	1,84	28,63	-	-	
178	10,13	1,38	13,94	-	-	
179	14,15	1,12	15,90	-	-	
Media	8,43	2,24	19,96	43,93	383,64	
E.E.M	0,69	0,25	2,89	8,25	71,34	
n=30.						

TABLA III: Secrecion pancreatica de reposo en pollos no anestesiados.(\*) Valores que han sido multiplicados por  $10^3$ .



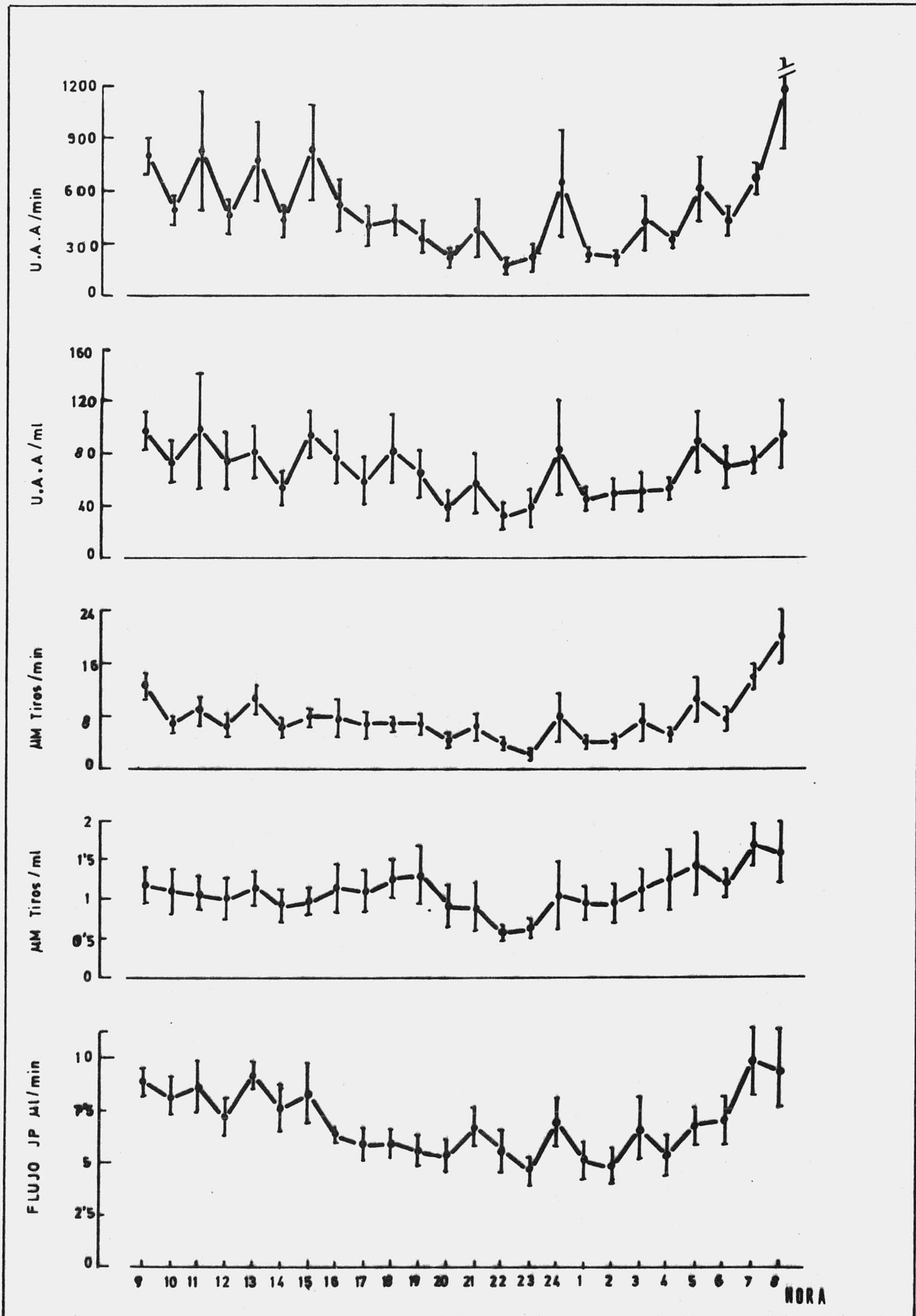


FIG.13:Secreción pancreática de reposo en pollos no anestesiados (n=5).Variación a lo largo de 24 hr. de los parametros estudiados. Valores medios y error estandar de la media.



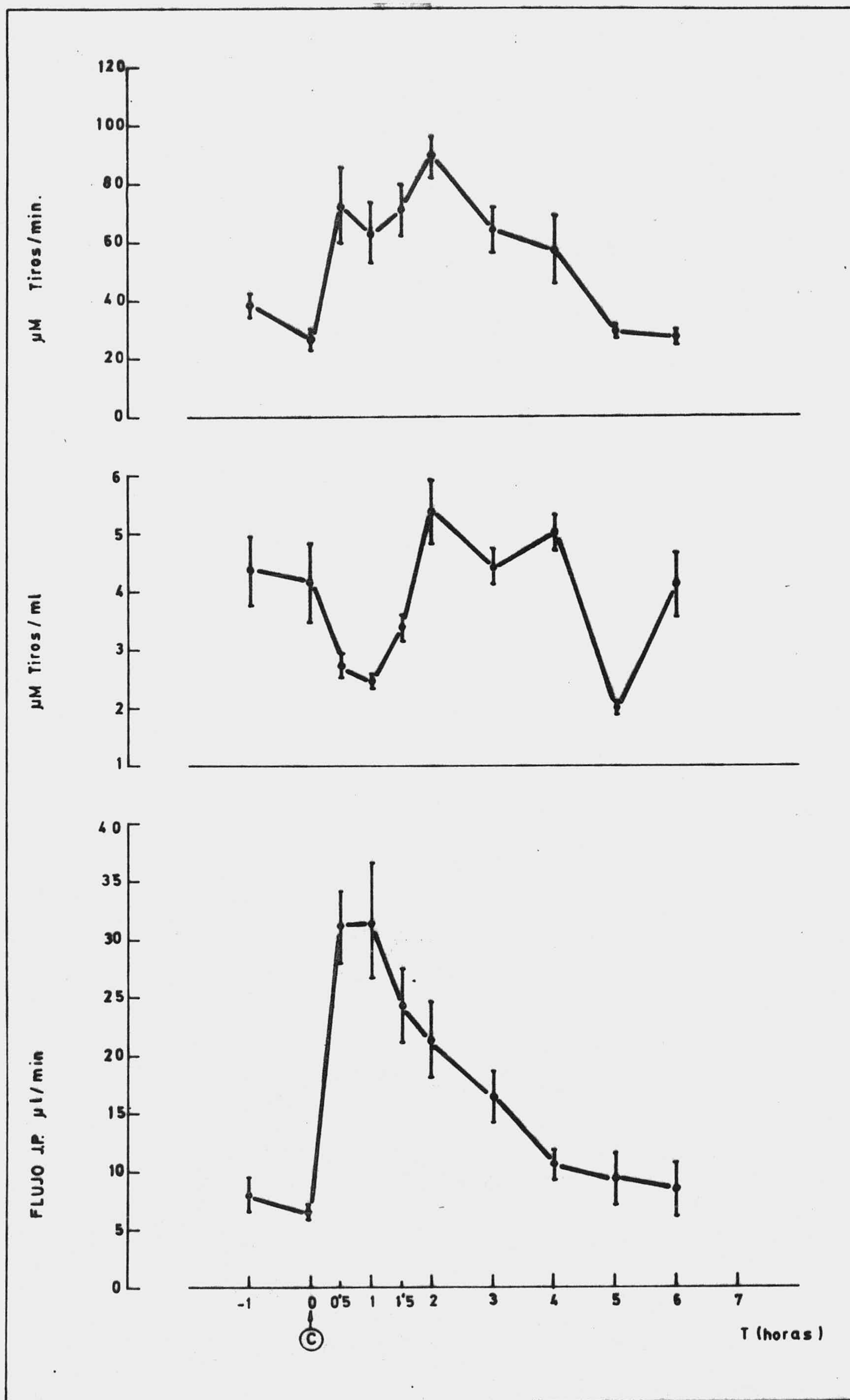


FIG.14:Secreción pancreática en respuesta a la comida (C) (25g.) (n=4). Variación a lo largo de 8 hr. de los parametros estudiados. Valores medios y error estandar de la media.



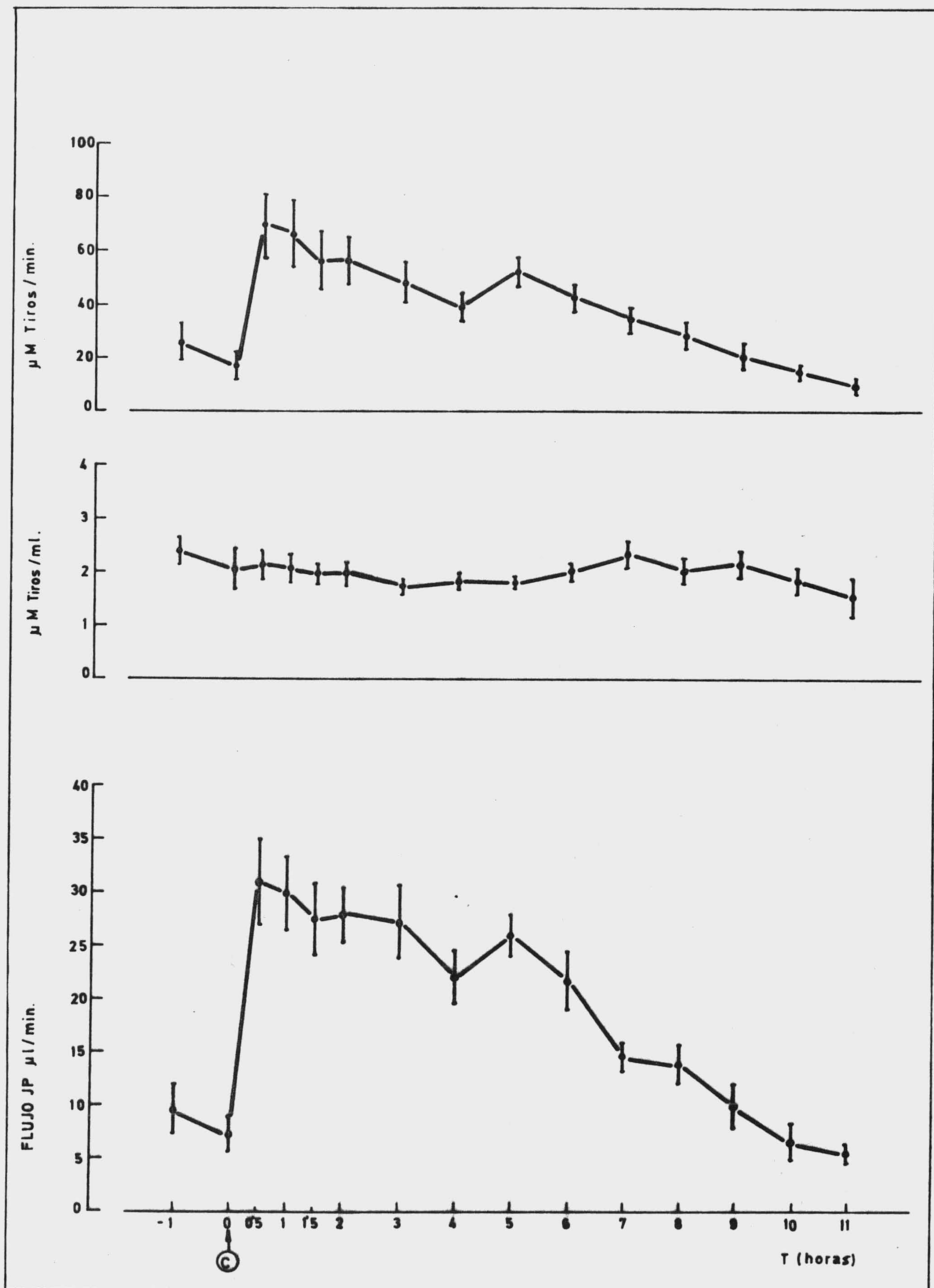


FIG.15: Secreción pancreática en respuesta a la comida (C) (50g.) (n=6). Variación a lo largo de 13 hr. de los parametros estudiados. Valores medios y error estandar de la media.



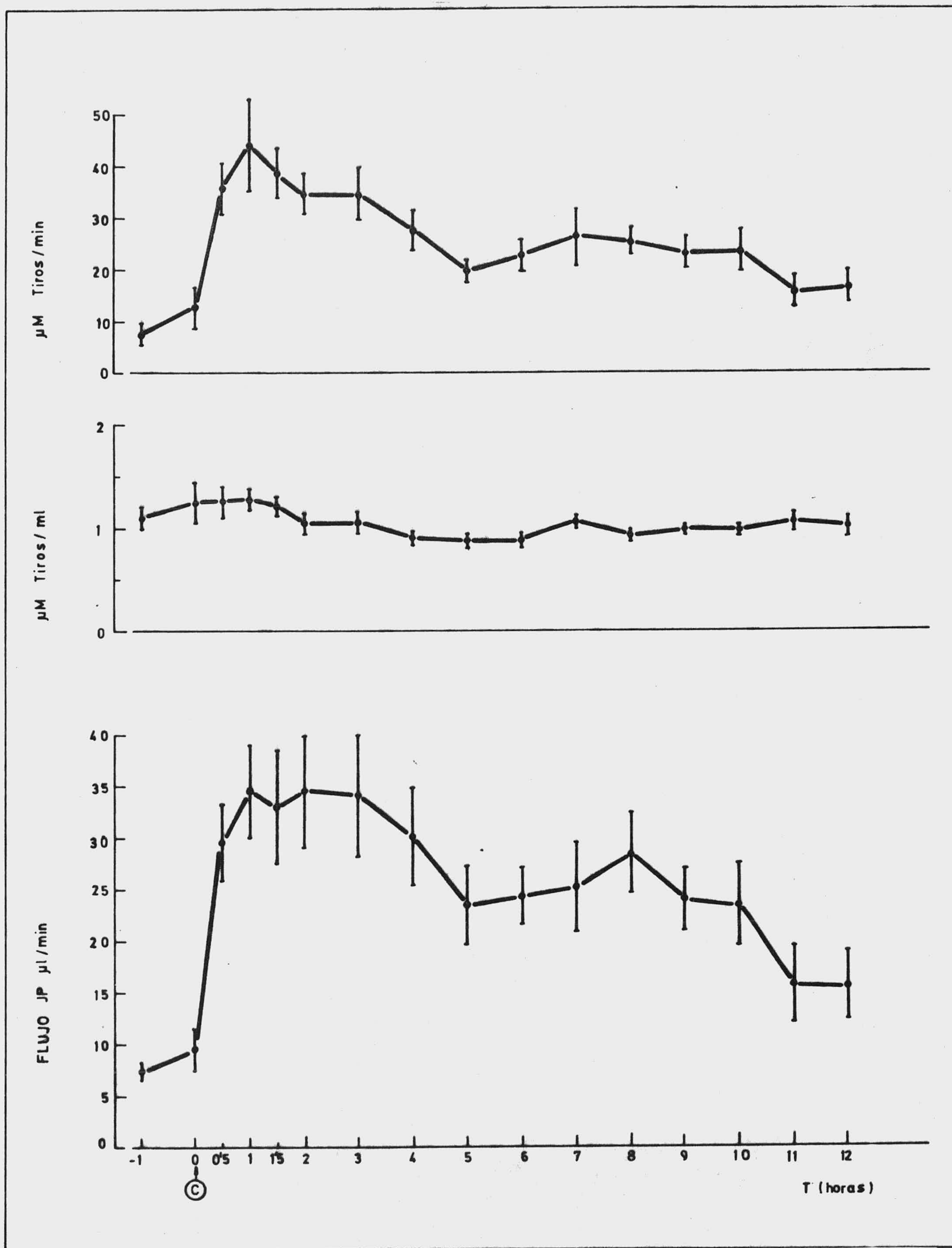
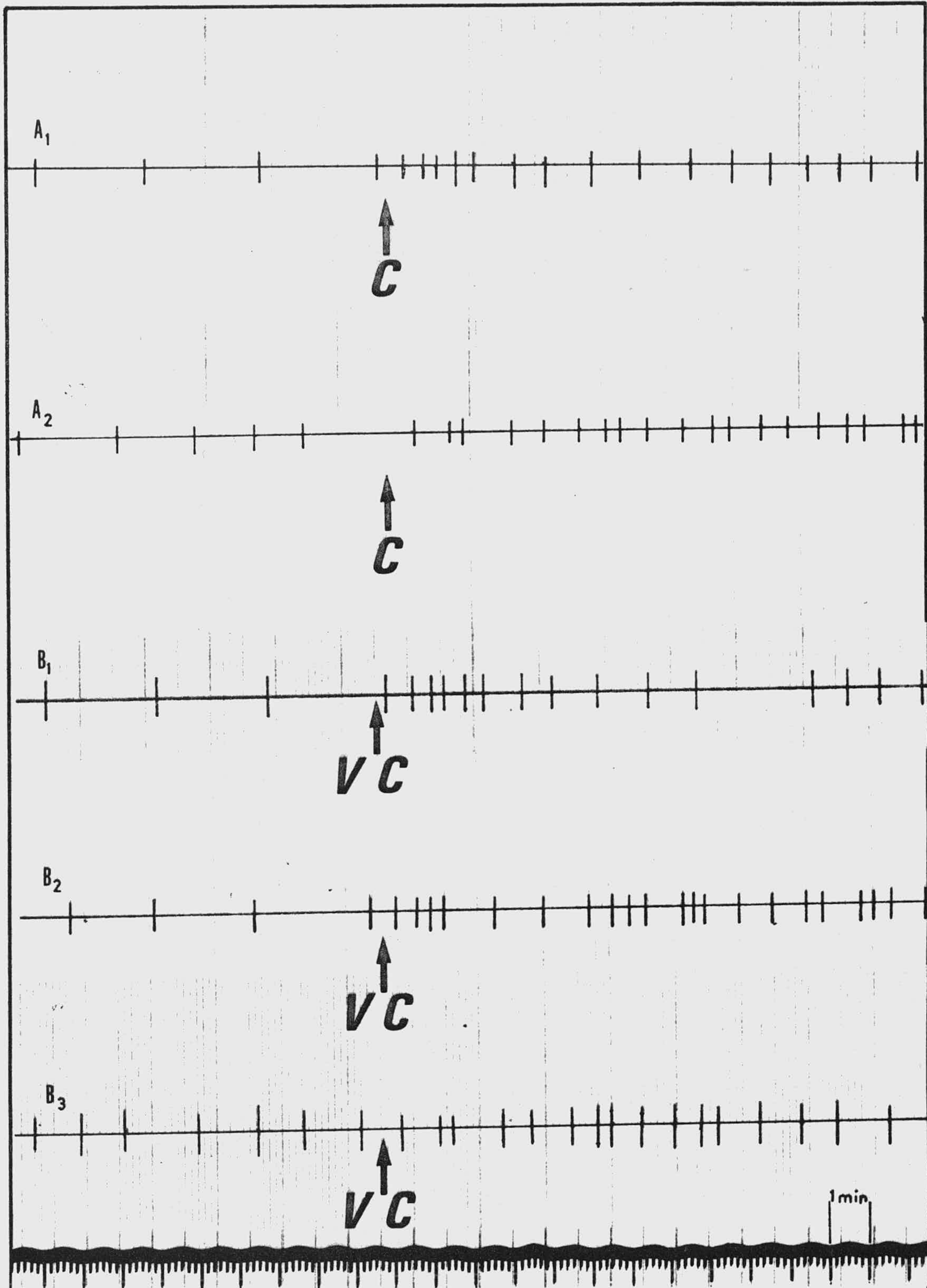


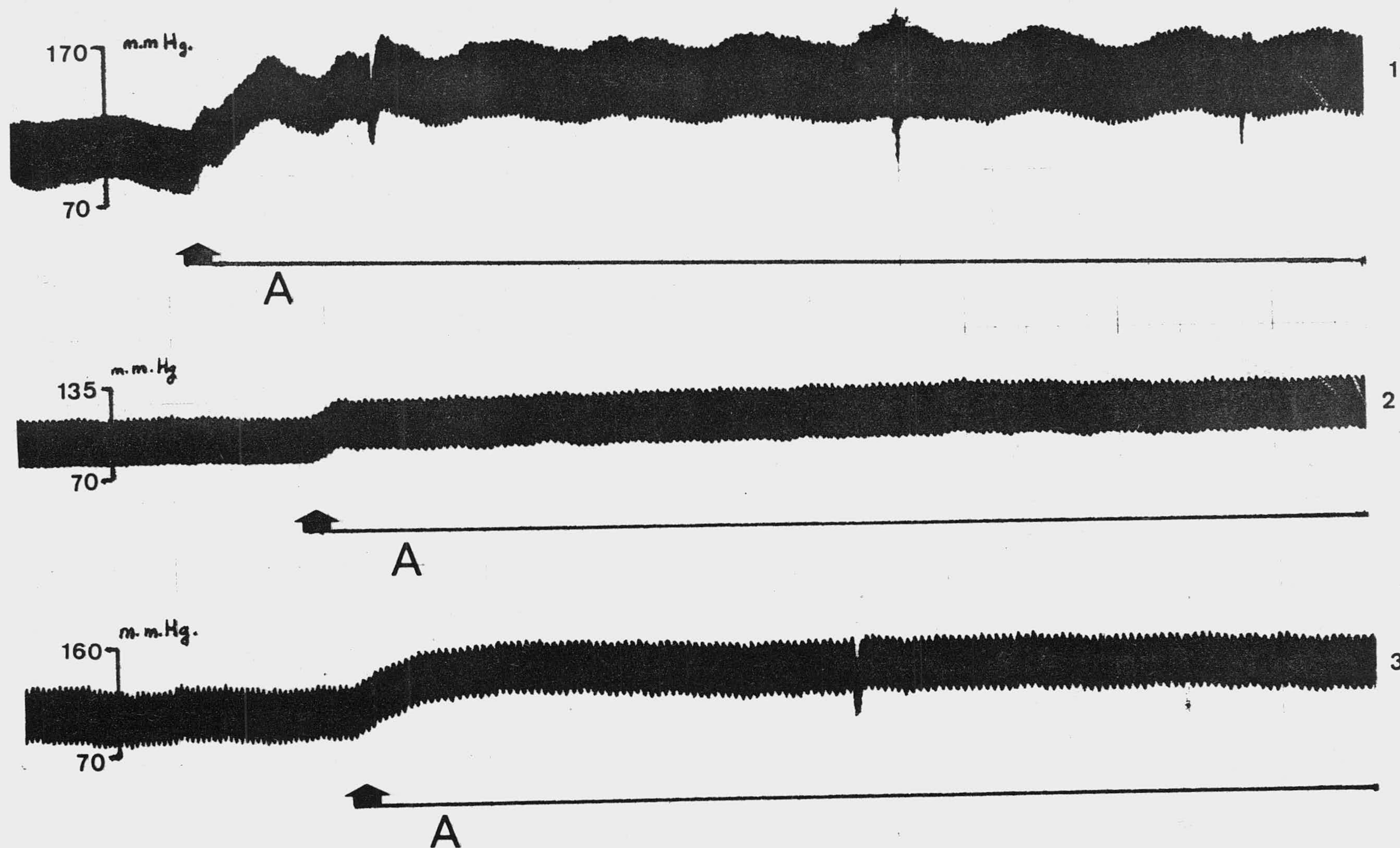
FIG.16:Secreción pancreática en respuesta a la comida (C) (75g.) (n=5). Variación a lo largo de 14 hr. de los parametros estudiados. Valores medios y error estandar de la media.





REGISTRO 14: A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>: efecto de la ingestión de alimento (desde C) sobre el flujo de jugo pancreático.  
B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub>: efecto de la presentación del alimento (desde VC) sobre el flujo de jugo pancreático.





REGISTRO 15: Efecto de la infusión intravenosa de clorhidrato de adrenalina ( $3,6\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$ ) (A), sobre la presión arterial en pollo anestesiado: 1) sin administración de bloqueantes. 2) previa administración de un  $\alpha$  bloqueante (fentolamina  $4\text{mg}/\text{Kg}$ ), 3) previa administración de un  $\beta$  bloqueante (propranolol  $2,5\text{mg}/\text{Kg}$ ).



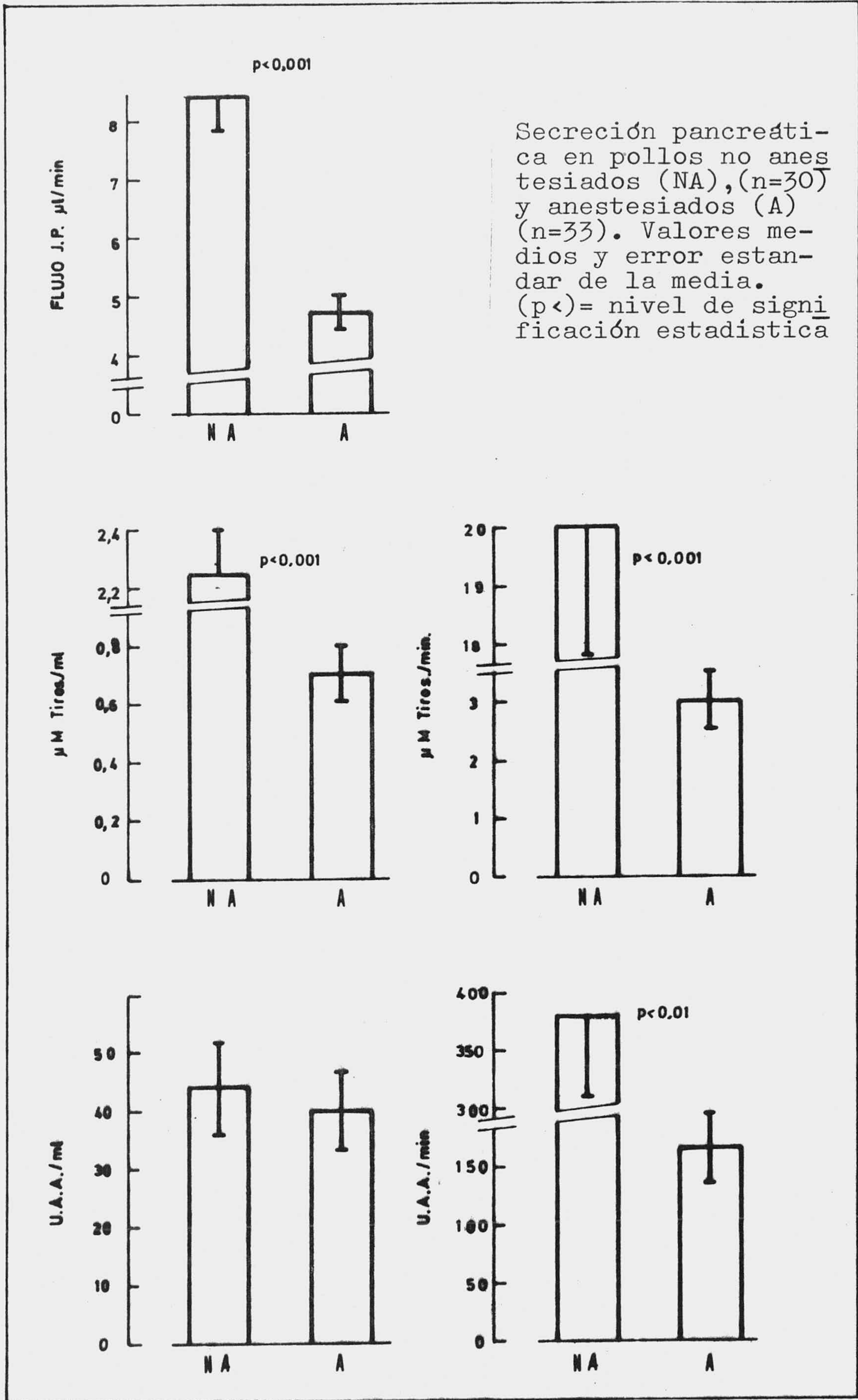


FIG. 17



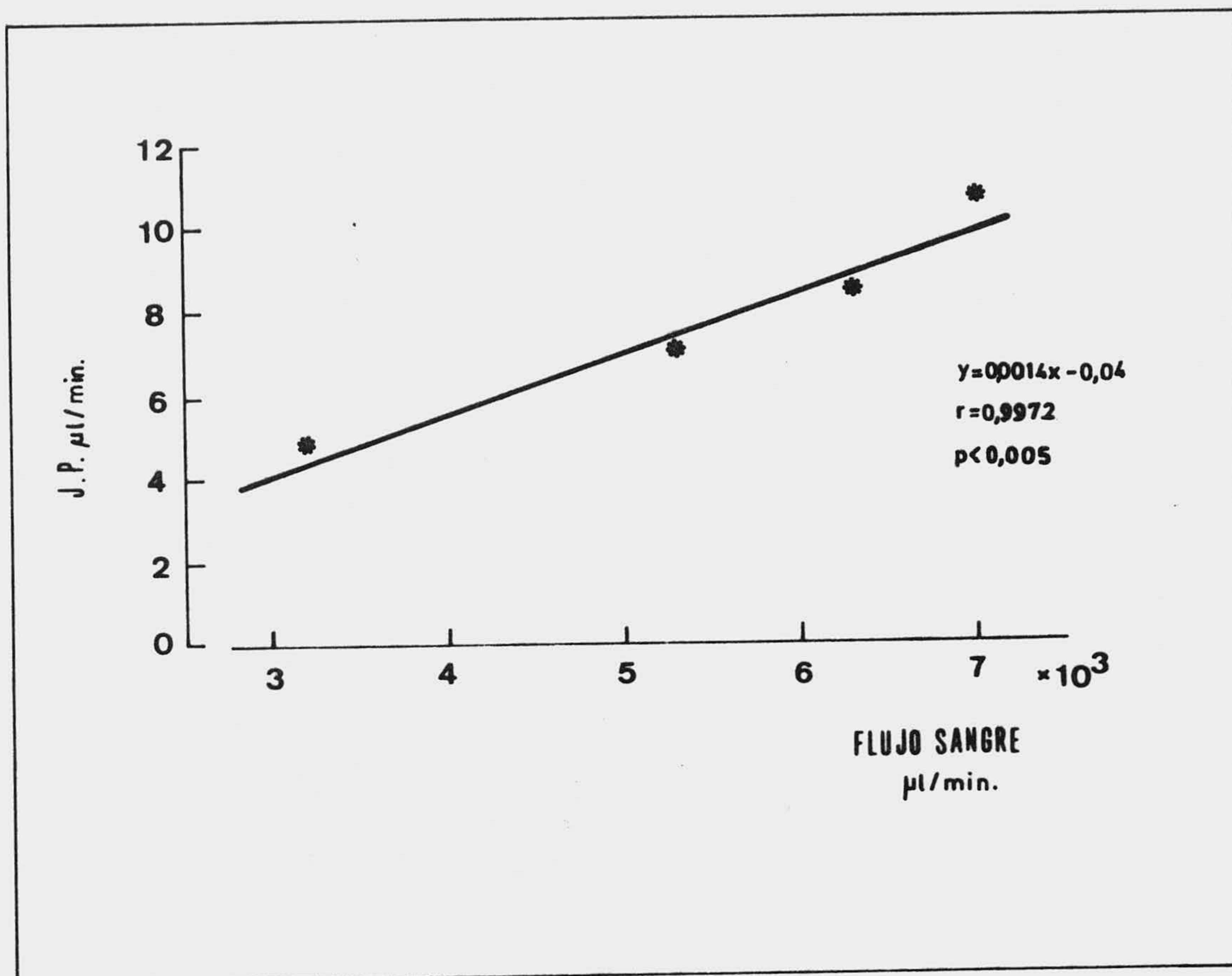


FIG.18: Correlación entre los valores de flujo de salida de sangre del pancreas y flujo de jugo pancreático de reposo obtenidos en 4 pollos anestesiados.



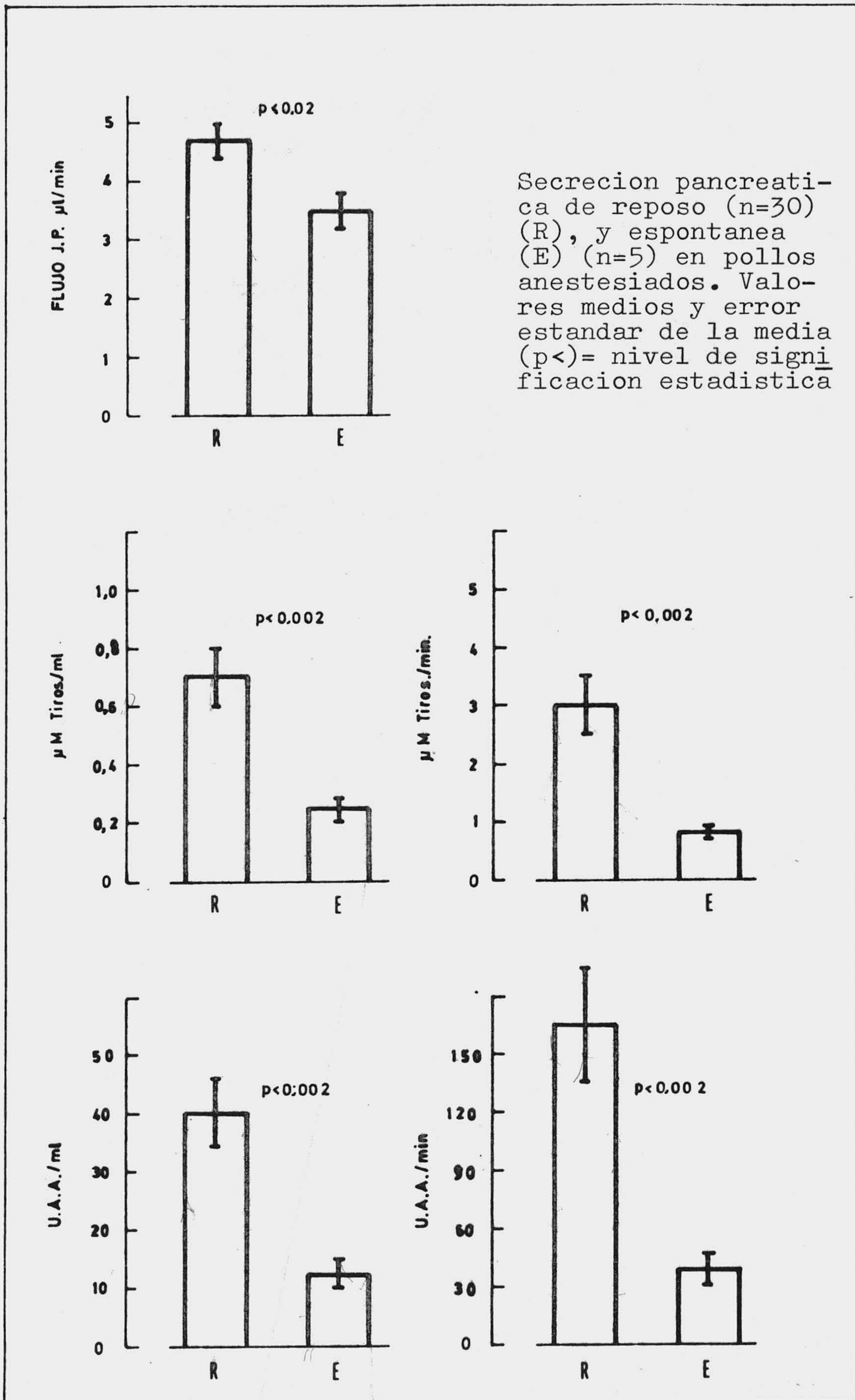


FIG. 19



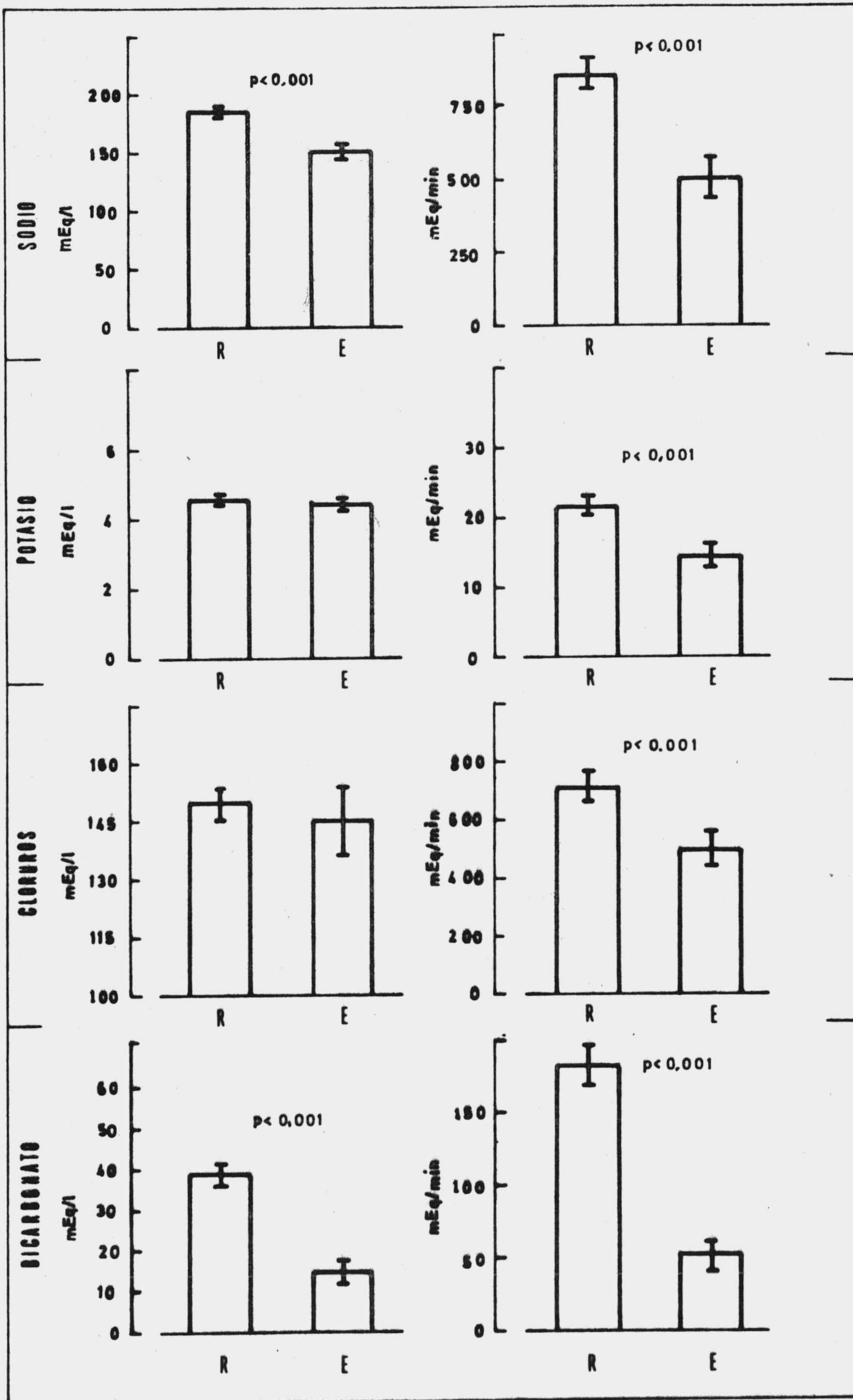


FIG. 19 CONT.



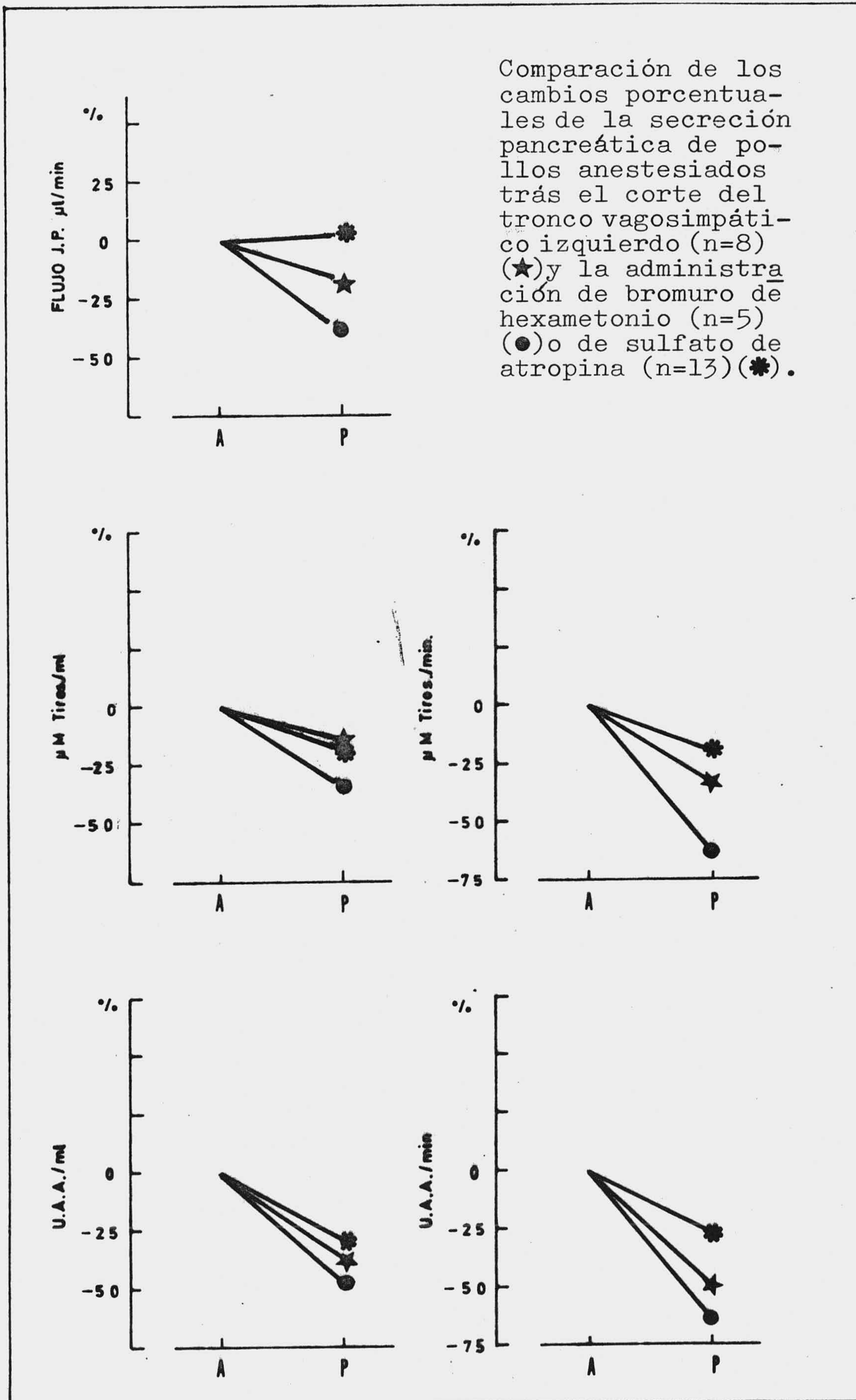


FIG. 20



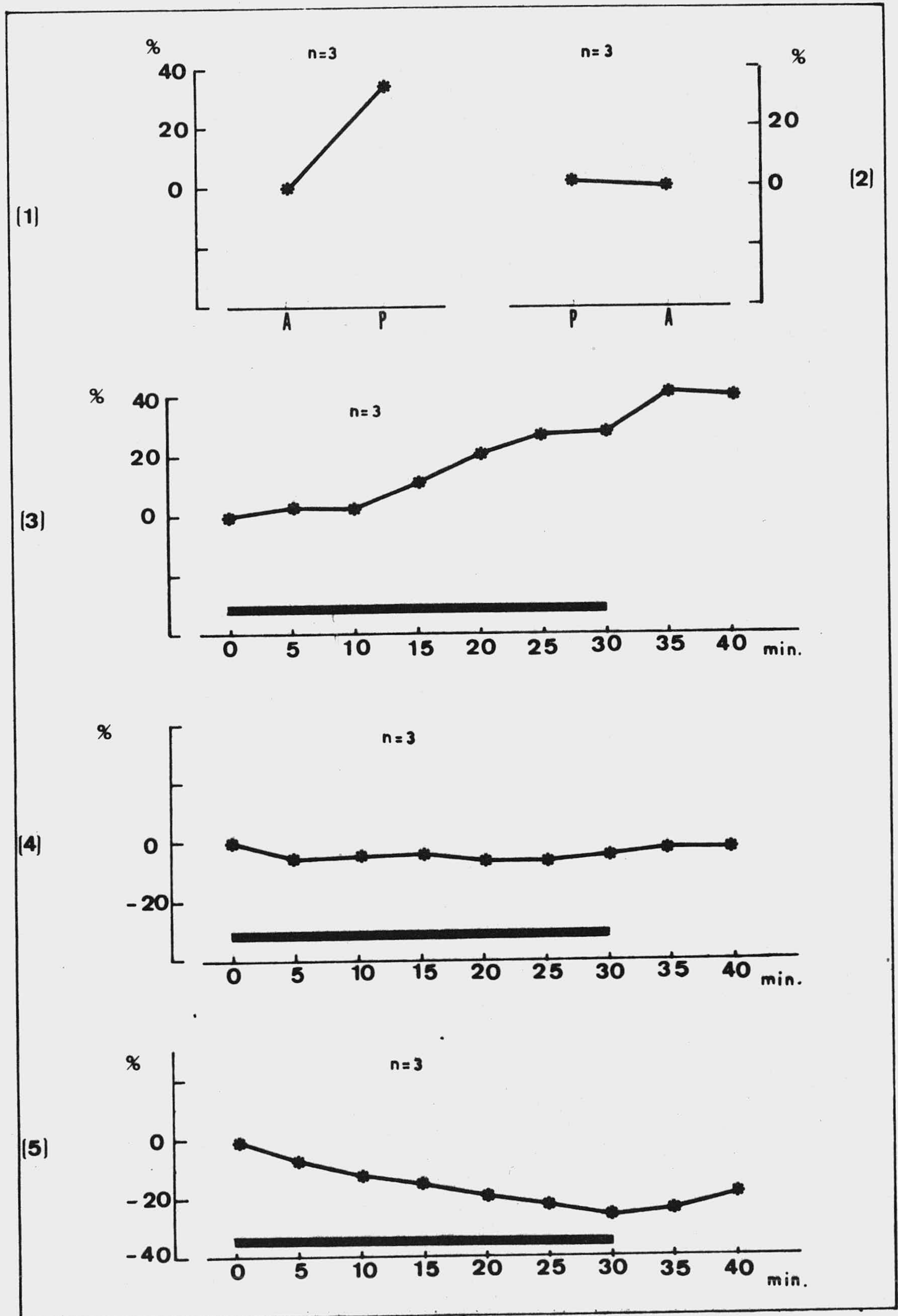


FIG.21: Cambios porcentuales del flujo de sangre de salida del páncreas en pollos anestesiados, tras administración de: fentolamina (1), propranolol (2) y durante la infusión de clorhidrato de adrenalina (■) a animales en reposo (3), con bloqueo  $\alpha$ -adrenérgico (4) y con bloqueo  $\beta$ -adrenérgico (5).



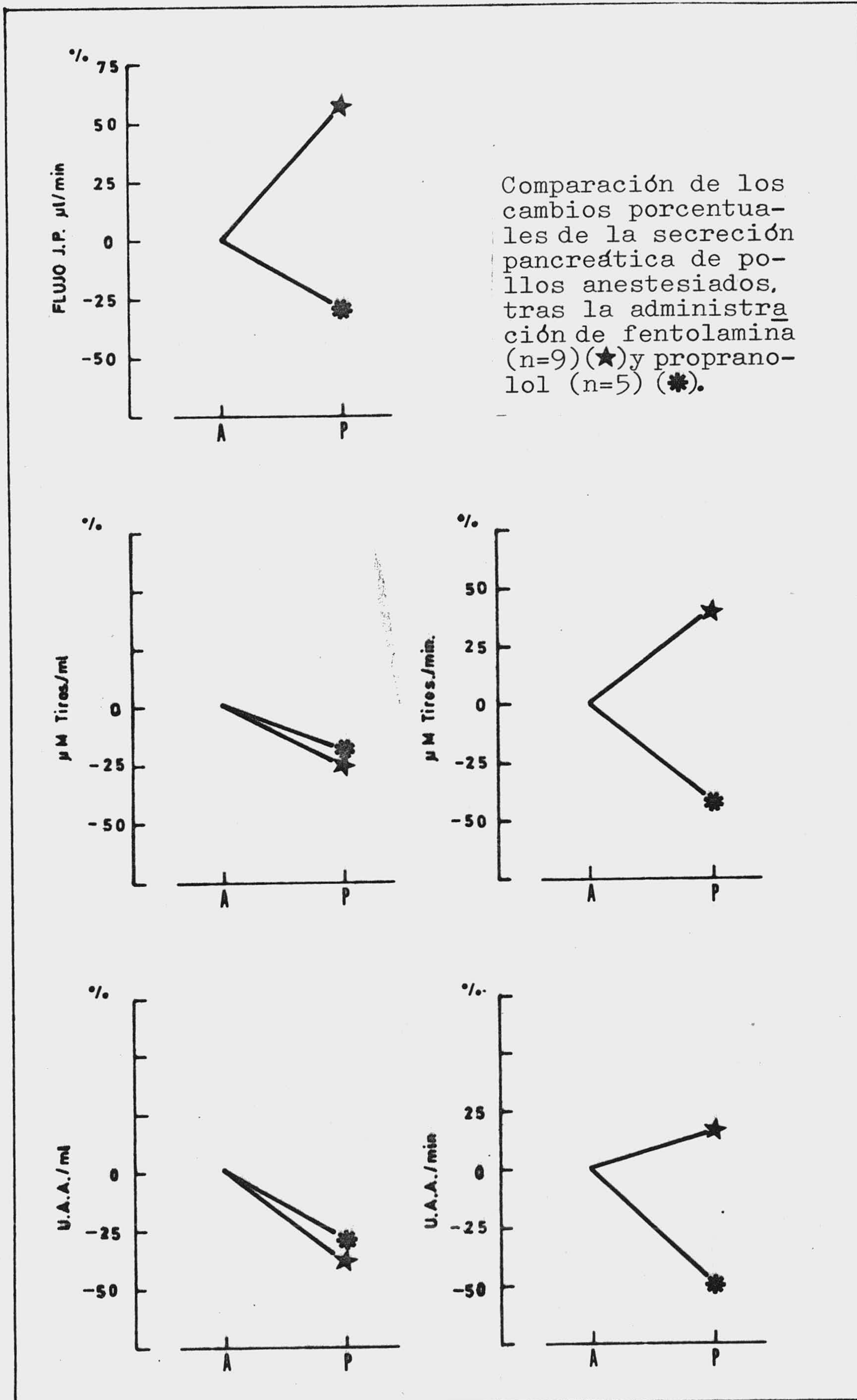


FIG 22



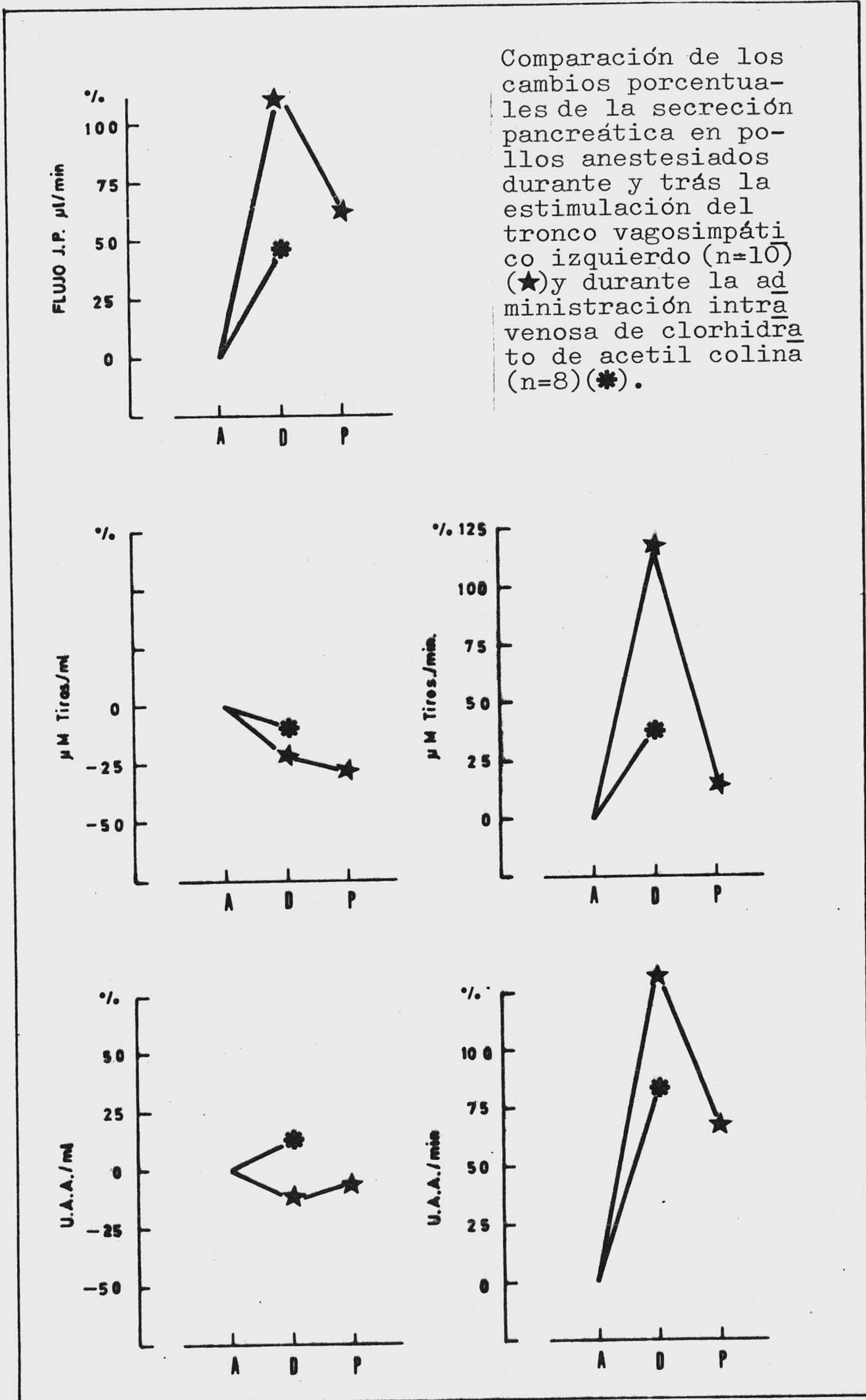


FIG 23



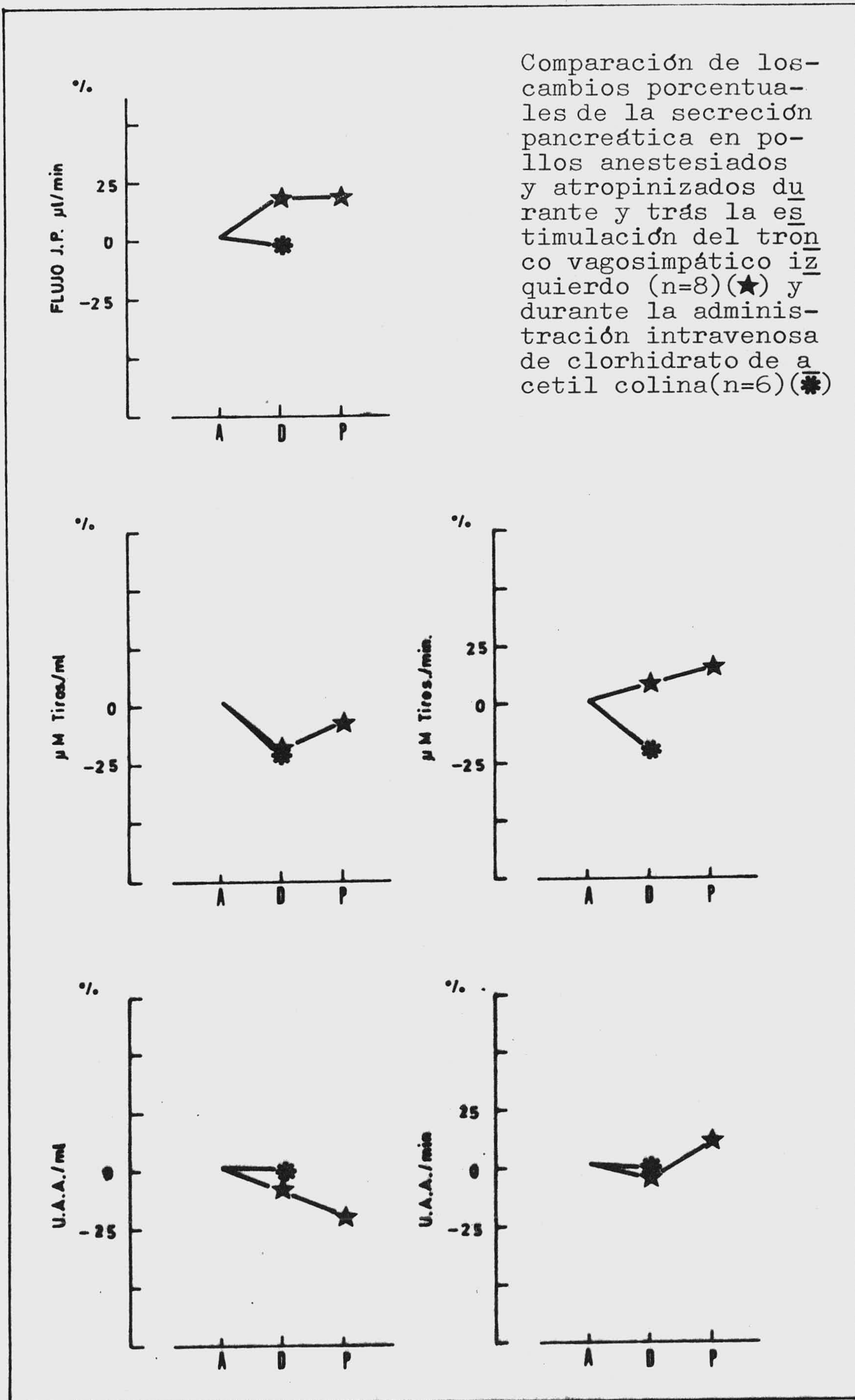


FIG 24



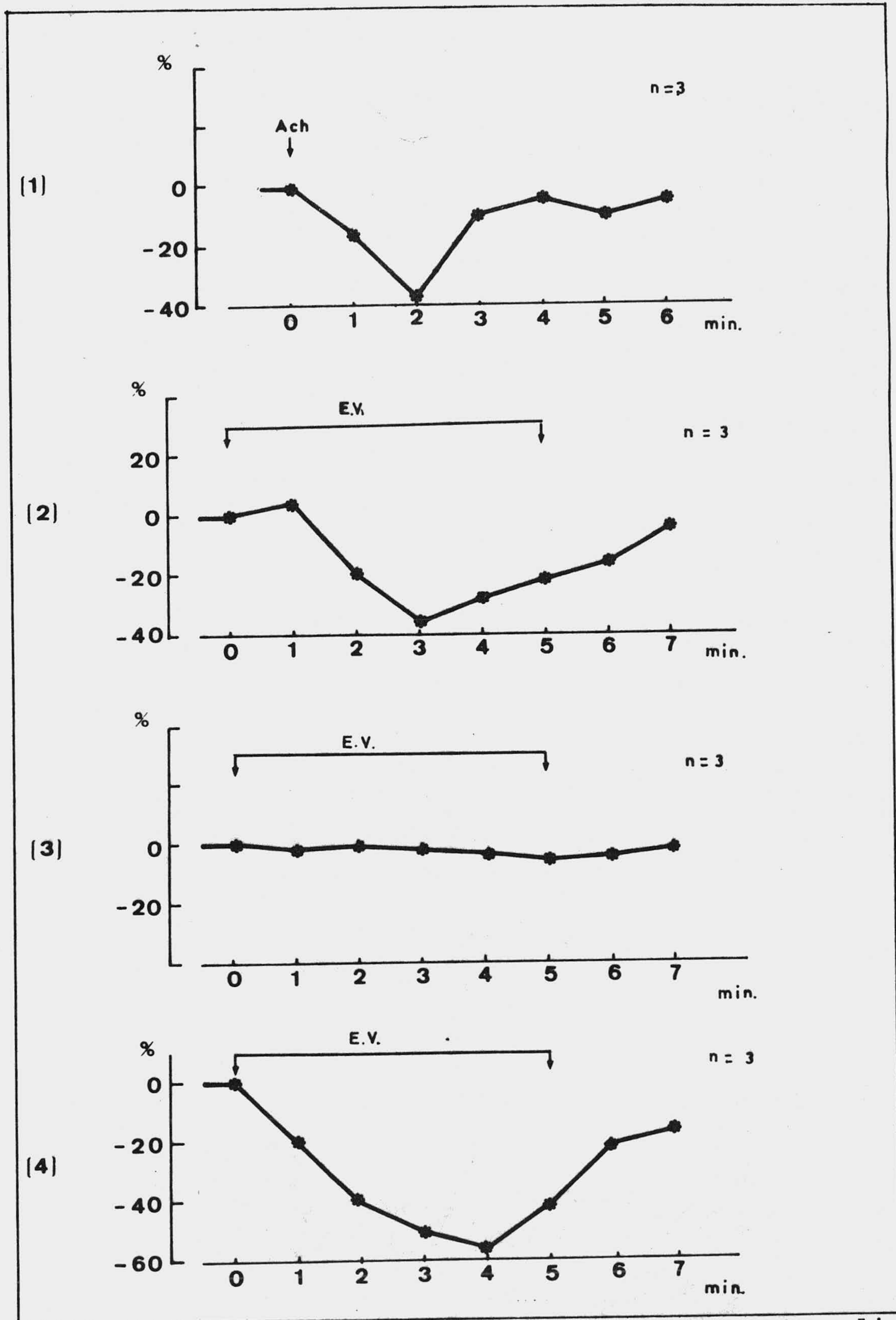


FIG.25: Cambios porcentuales del flujo de sangre de salida del pancreas en pollos anestesiados, tras administración de clorhidrato de acetil colina (1) y durante la estimulación del tronco vagosimpático izquierdo en animales en reposo (2), atropinizados (3) y con bloqueo  $\alpha$  y  $\beta$ -adrenérgico. (4).



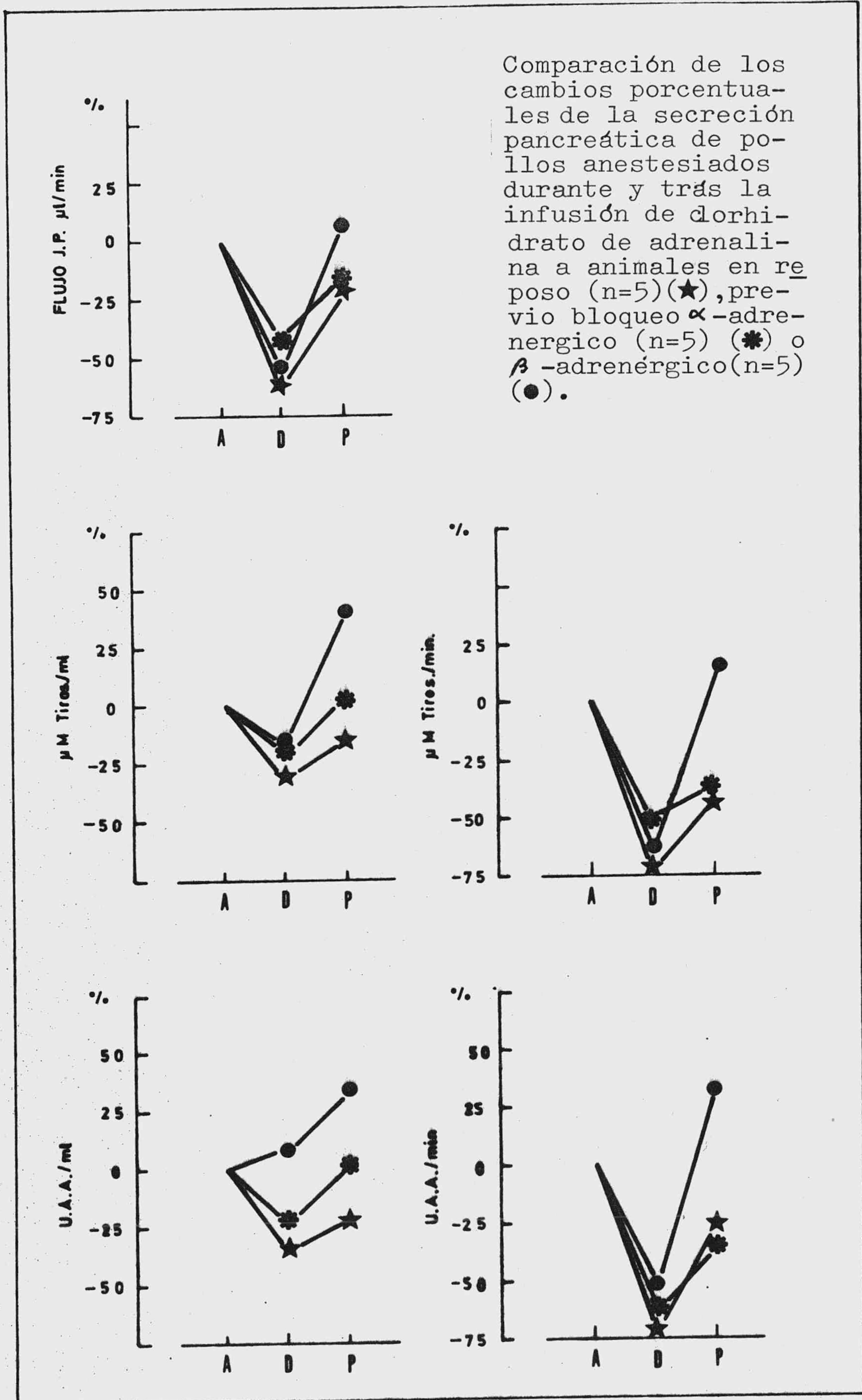


FIG 26



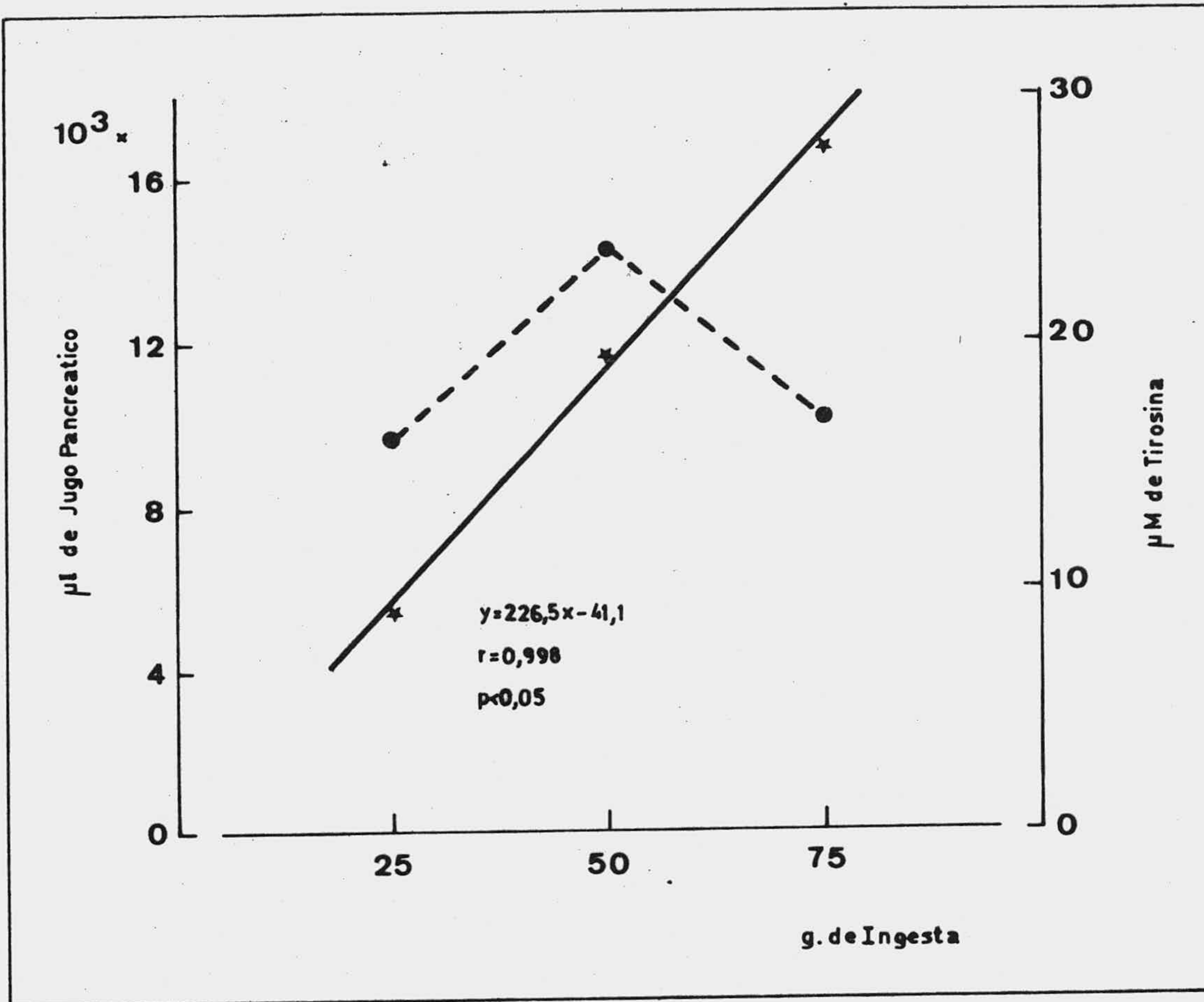


FIG.27: Correlacion entre el volumen de ingesta y el volumen de jugo pancreatico segregado durante la respuesta a la misma (★—★)  
Correlacion entre el volumen de ingesta y la cantidad de proteina total del jugo segregado durante la respuesta a la misma (●—●)



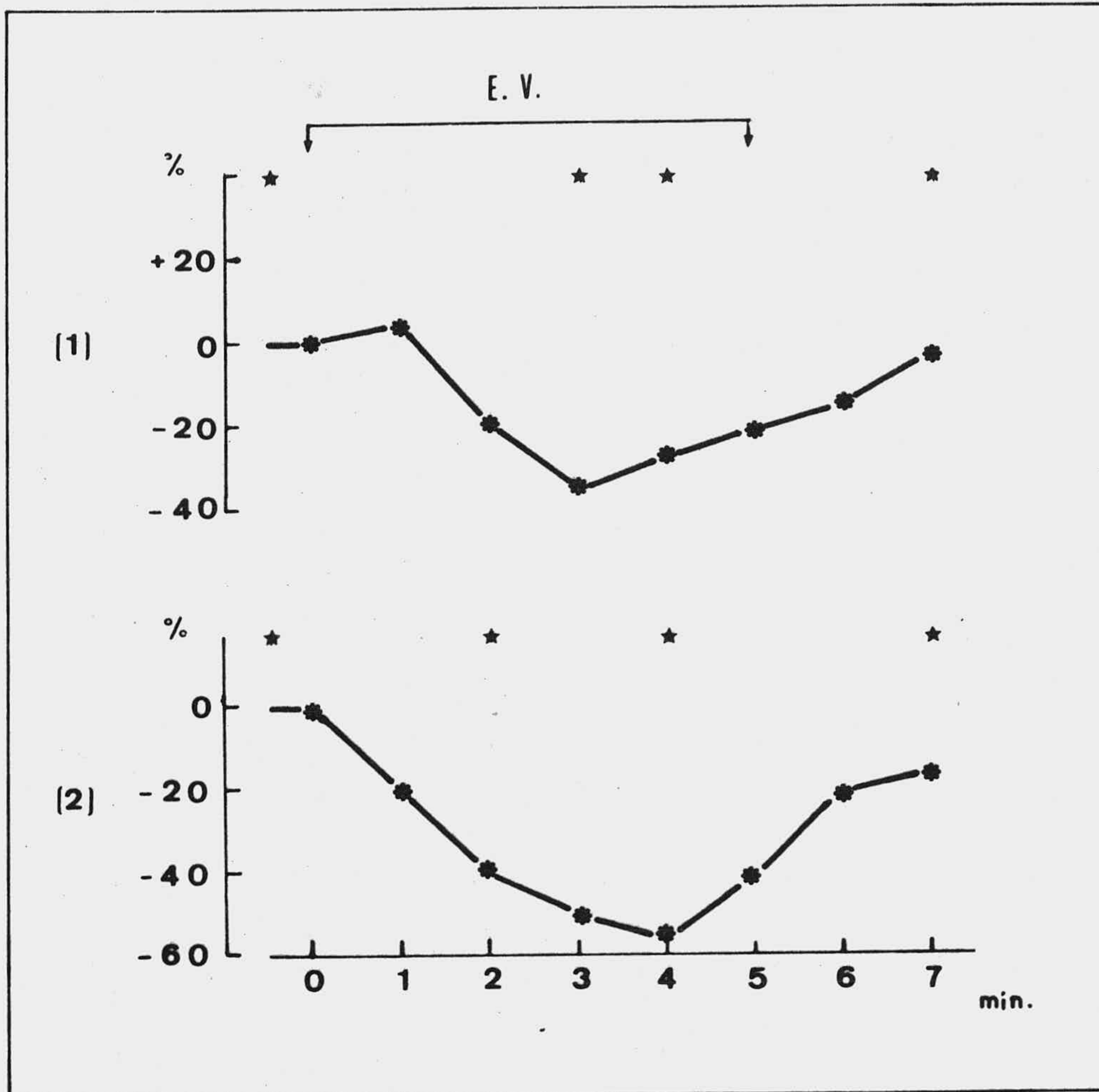


FIG.28:Comparación de los efectos que produce una estimulación vagal(E.V.)(15v/0,3ms/25pps),en pollos anestesiados(1),con los producidos por una estimulación vagal del mismo tipo en animales anestesiados a los que previamente se les administró un bloqueante  $\alpha$ -adrenérgico y un bloqueante  $\beta$ -adrenérgico (2), sobre el flujo de sangre de salida del pancreas(●) y sobre el flujo de jugo pancreático(\*).Los cambios del flujo de sangre se expresan como variaciones porcentuales(%) y cada estrella(\*)representa una gota de jugo pancreático equivalente a 30  $\mu$ l.



===== DISCUSSION =====



### 5.1.- SECRECION DE REPOSO

En todos los casos, tanto en animal anestesiado como no anestesiado, existe una apreciable secrecion basal de jugo pancreático, que se hace presente desde el momento mismo de la canulación del conducto pancreático principal. El flujo de reposo, es notablemente constante para cada animal (Registro 1), pero muy variable interindividualmente (Tablas I y III), aún cuando las condiciones experimentales sean idénticas; por otra parte, no existe correlación estadísticamente significativa entre el volumen segregado y el peso del pancreas o del animal, ni tampoco entre estas dos ultimas variables.

En los animales anestesiados, el flujo basal medio es de  $4,7 \pm 0,3 \mu\text{l}/\text{min.}$  ( $n = 33$ ), con unos valores extremos de 2,07 y 9,7  $\mu\text{l}/\text{min.}$  (Tabla I), datos que son comparables a los obtenidos por Angelucci (5) en el pollo y por Dimaline y Dockray en el pavo (48). En relación con el peso del pancreas, este flujo es muy superior al de mamíferos carnívoros como el gato (123) y el perro (171), mayor que el de algunos herbívoros como la oveja (232), comparable al de otros herbívoros como el conejo (147) y en cambio muy inferior al del caballo (2). Conviene resaltar que incluso entre especies muy relacionadas, con hábitos alimentarios similares, la secreción basal de jugo pancreático puede ser muy diferente, como se desprende de la comparación entre el mono patas, con un flujo nulo, y el mandril, con unos 60  $\mu\text{l}/\text{min.}$  (217).

En pollos no anestesiados el flujo de reposo es de  $8,4 \pm 0,7 \mu\text{l}/\text{min.}$  ( $n = 30$ ), con valores extremos de 2,3 y 19,1  $\mu\text{l}/\text{min.}$  (Tabla III); de nuevo estos datos son comparables a los de otros autores (104,115),



aunque, como ya se ha indicado en método, la técnica utilizada era menos fiable que la nuestra. Como se puede apreciar, la secreción de reposo es marcadamente más alta en los animales no anestesiados que en los anestesiados, siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ) (Fig. 17). Este mismo hecho ha sido observado en el caballo (2,60). Probablemente estas diferencias se deban en parte a que, al no estar ligado el píloro en los pollos no anestesiados, la llegada del contenido gástrico al duodeno puede inducir de forma tónica la liberación de hormonas gastrointestinales, y en parte a que la presencia de bilis en intestino delgado favorezca la secreción de jugo pancreático (65).

Como explicaciones adicionales podemos sugerir que el menor flujo en pollos anestesiados se deba a la descarga simpática inherente al trauma quirúrgico, de acuerdo con lo indicado por Holton (100) o a la posible hipotermia pasajera, lo que sería coherente con los datos de Lupiani (131).

En los casos en que se midió el flujo sanguíneo de salida de la glándula ( $n = 4$ ) se aprecia una correlación significativa entre dicho flujo y la secreción basal ( $r = 0,9972$ ;  $p < 0,005$ ) (Fig.18).

La actividad amilásica es elevada, muy superior a la encontrada en nuestro Departamento con idéntico método analítico en el conejo (147,148), el mandril (217) y el perro (137). Dicha actividad no difiere significativamente en los animales anestesiados o no (Fig.17), si bien, obviamente en estos la producción enzimática es mayor, debido al flujo más profuso.

Sin embargo la concentración de proteína total es mucho más alta en los animales no anestesiados



(Fig.17). Esta diferencia podria atribuirse a la producción de mucoproteinas.

En cuanto a los electrolitos (Tabla I), que solo se han medido en pollos anestesiados, no presentan peculiaridades. Se ha comprobado que la suma de concentraciones de sodio y potasio equivalen a la de cloruro y bicarbonato, de acuerdo con la clásica fórmula de Wheeler y Mancusi-Ungaro (223), que ha sido confirmada repetidamente en mamíferos. Sin embargo los niveles de sodio, cloruro y bicarbonato son más altos que los encontrados por nosotros en plasma (152,112 y 23 mEq/l. respectivamente), lo que sugiere algún tipo de fenómeno activo.

Finalmente se han controlado en 5 animales no anestesiados el flujo y la actividad enzimática del jugo pancreático a lo largo de 24 horas (Fig.13). Aunque estos resultados son preliminares, sugieren la existencia de un ritmo circadiano, con un periodo de hiposecreción desde las 16 a las 4 horas naturales, que se manifiesta, en ausencia de estímulos, no solo en el flujo, sino también en la actividad enzimática, siendo especialmente claro en la producción de enzimas. Para cada animal a lo largo del nictémero existe correlación estadísticamente significativa entre flujo de jugo pancreático y la actividad amilásica del mismo ( $p < 0,005$ ).

Un ritmo similar en la secreción del páncreas exocrino ha sido descrito en la rata, aunque los máximos y mínimos están desplazados en el tiempo (13). Sin embargo es difícil relacionar estos hechos con los hábitos alimentarios propios de cada una de las dos especies.



## 5.2.- SECRECION ESPONTANEA

Una vez comprobada la existencia de una secreción de jugo pancreático que se mantiene en periodos de reposo digestivo, el paso inmediato es dilucidar si se trata de una auténtica secreción espontánea, es decir si no se debe a actividad residual de los sistemas excitadores y nerviosos y/o hormonales, sino que depende de procesos intrínsecos a la propia glándula, tal como se ha descrito en la parótida de rumiantes (29), la mandibular del conejo (193) y en el pancreas exocrino del conejo (148). En este sentido nuestros resultados demuestran que, después de cortar el tronco vagosimpático cervical izquierdo, de administrar atropina (3 mg/Kg) y hexametonio (10 mg/kg.) y de introducir en estómago (desde proventrículo) HCl 0,15 N, y en duodeno  $\text{HCO}_3\text{Na}$  de la misma normalidad, persiste un flujo de jugo pancreático de 3,5  $\mu\text{l}/\text{min}$ . (Tabla II; Registro 2); este flujo es significativamente diferente del encontrado en condiciones normales (Fig.19) ( $p < 0,02$ ), lo que indica que, si bien las influencias neuroendocrinas tónicas no son imprescindibles en el mantenimiento de la secreción basal, si son importantes; de hecho creemos que tras las maniobras experimentales descritas, las cuales teóricamente deben eliminar todas las influencias nerviosas y hormonales, el flujo medido responde a una verdadera secreción espontánea.

Por lo que se refiere a la composición del jugo segregado en esta situación (Tabla II), se observa una reducción significativa (Fig.19) en la concentración de proteína total ( $p < 0,002$ ), en la actividad amilásica ( $p < 0,002$ ) y en las concentraciones de sodio ( $p < 0,001$ ) y bicarbonato ( $p < 0,001$ ), pero no en las de cloruro y pota-



sio. Todo ello sugiere, a nuestro entender, que los diferentes factores neurohormonales afectan a aquellos componentes del jugo pancreático cuya secreción depende, en todo o en parte, de procesos activos.

La realización por separado de las maniobras a que nos hemos referido aporta alguna luz al problema de cuales son los efectos tónicos sobre la secreción basal y cual es su importancia relativa.

La administración de hexametonio (Fig.3, Registro 5) reduce el flujo a  $3,7 \pm 0,7 \mu\text{l}/\text{min.}$ , valor muy similar al comentado anteriormente. Ello indica que las acciones tónicas que mantienen la secreción de reposo son predominantemente nerviosas, y permite minimizar la contribución de los factores hormonales. Ahora bien, dado que este fármaco bloquea los receptores nicotínicos existentes en todos los ganglios vegetativos, su efecto no nos dice nada acerca de si el tono es simpático o parasimpático.

El corte de los vagos podría ayudar a resolver la cuestión; sin embargo, por las dificultades técnicas descritas en método, solo se ha podido cortar el tronco vagosimpático izquierdo, lo que quita valor a los resultados; por otra parte la existencia en el tronco de fibras simpáticas postganglionares representa una complicación adicional. Con todas estas limitaciones, no obstante, el hecho de que el corte del tronco vagosimpático izquierdo reduzca significativamente (Fig.1, Registro 3) el flujo de jugo pancreático parece sugerir que el tono vagal es un factor relevante en su mantenimiento.

La atropina, por el contrario, (Fig.2, Registro 4) no modifica significativamente el flujo basal. La explicación más inmediata de este hecho sería admitir





que el tono vagal depende de fibras no colinérgicas, fibras que probablemente liberarian péptidos como transmisores en las sinapsis neuroefectoras. Pero la diferencia de efectos entre hexametonio y atropina podria tambien explicarse en parte a nivel ganglionar por las siguientes consideraciones: la atropina bloquea los receptores muscarínicos, cuya intervención en la transmisión ganglionar es secundaria, pero ademas anula la influencia inhibidora de las interneuronas cromafines, de modo que teoricamente podrian compensarse ambos efectos; en todo caso si las fibras postganglionares responsables del tono fuesen colinérgicas la atropina deberia seguir siendo eficaz; finalmente ha sido descrita en pollo (201) la existencia en el pancreas de fibras que liberan péptido intestinal vasoactivo, lo que refuerza nuestra hipótesis.

En la Fig.20, se comparan las variaciones porcentuales que experimentan el flujo de jugo pancreático, las concentraciones de amilasa y proteina total y las producciones de las mismas, tras el corte del vago izquierdo, la administración de hexametonio o la de atropina.

En cuanto a las posibles influencias tónicas adrenérgicas, los datos obtenidos tras administración de agentes bloqueantes alfa y beta adrenérgicos indican lo que sigue: el agente alfa-bloqueante ocasiona (Fig.9, Registro 10) un aumento significativo del flujo basal, lo que a nivel ganglionar podria deberse a la pérdida de la inhibición mediada por las celulas cromafines, si estas, como se ha sugerido (70) actuan a traves de  $\alpha$ -receptores. Ahora bien el agente bloqueante  $\alpha$ -adrenérgico induce tambien un incremento significativo (Fig.21) del flujo de sangre de salida del pancreas, por lo que el cambio en la secreción podria ser parcialmente una consecuencia de las



modificaciones vasculares en la glándula.

Por su parte, la administración del bloqueante  $\beta$ -adrenérgico no modifica el flujo sanguíneo (Fig.21), pero reduce significativamente el flujo de jugo pancreático (Fig.10, Registro 11), lo que no puede explicarse sino sobre la base de un efecto tónico  $\beta$ -adrenérgico que contribuye a mantener la secreción basal. En la Fig.22 se comparan las variaciones porcentuales que experimentan el flujo de jugo pancreático, las concentraciones de amilasa y proteína total y las producciones de las mismas, tras la administración de bloqueantes alfa o beta adrenérgicos.

Las variaciones observadas en la composición del jugo segregado, por lo que se refiere a electrolitos, no parecen tener una explicación clara, y no se vislumbra cual pudiera ser su sentido biológico. En cuanto a la actividad amilásica se ve reducida significativamente ( $p < 0,02$ ) por el agente  $\alpha$ -bloqueante (Fig.9), pero este descenso, concomitante con una elevación del flujo, puede ser atribuido a dilución. El  $\beta$ -bloqueante reduce en todos los animales la actividad amilásica (Fig.10); aunque la diferencia no llega a alcanzar significación estadística, y puesto que simultáneamente el flujo disminuye, podemos admitir un efecto tónico  $\beta$ -adrenérgico sobre dicha secreción enzimática, como ha sido descrito en otras glándulas exocrinas (139).

La atropina reduce significativamente la actividad amilásica (Fig.2), mientras que el corte de los vagos (Fig.1) y el hexametonio (Fig.3), si bien inducen un descenso de dicha actividad, no lo hacen de forma significativa. Ello indica que las fibras coliné



gicas son más importantes en la secreción enzimática que en la fracción hidromineral. En la mayor parte de los mamíferos estudiados (conejo (129), cerdo (98)) la atropina afecta de forma paralela al flujo y a la actividad enzimática. Sin embargo hay un caso, el caballo (60), en que dicho fármaco reduce la actividad enzimática sin modificar el flujo, situación que es análoga a lo que acabamos de comentar para el pollo (Fig. 20).

De la observación global de nuestros resultados se desprende, en nuestra opinión que el elevado flujo que permanece tras abolir gran parte de las influencias tónicas, se debe con toda probabilidad a una auténtica secreción espontánea, aunque una confirmación experimental directa de este hecho solo podría obtenerse mediante ensayos en pancreas aislado y perfundido.

### 5.3.- REGULACION NERVIOSA

Los datos discutidos anteriormente acerca de la secreción espontánea, y su modulación por las influencias vegetativas tónicas, de entrada hablan a favor de la transcendencia del control nervioso del pancreas exocrino del pollo, que, por otra parte, constituye el objetivo prioritario de la presente Tesis doctoral.

Nos enfrentamos con una amplia gama de posibilidades de actuación fisiológica en los ganglios vegetativos, en función de la diversidad de receptores reales o hipotéticos allí existentes, así como con la liberación tónica o fásica de diversos transmisores en las sinapsis neuroefectoras, transmisores cuya acción



puede tener lugar sobre muy variados elementos secretores o vasculares dentro de la glándula. Por todo ello son de esperar interacciones complejas que dificultan extraordinariamente la interpretación de los datos obtenidos. En general la bibliografía sobre regulación nerviosa de la secreción exocrina del páncreas en mamíferos atribuye una preponderancia al sistema colinérgico. Sin embargo, en la especie objeto de nuestro estudio, las escasas informaciones bibliográficas apuntan hacia un mayor equilibrio funcional de ambas divisiones autónomas, y hacia la presencia de componentes anatómicamente parasimpáticos, pero no colinérgicos. En todo caso, discutiremos aisladamente el control parasimpático y simpático, pero sin olvidar que de hecho no pueden separarse.

#### 5.3.1.- REGULACION NERVIOSA PARASIMPATICA

La estimulación vagal (tronco vagosimpático cervical izquierdo 15v/0,3mseg/25pps) produce en el pollo un marcado incremento del flujo de jugo pancreático (Fig.4), que llega a multiplicarse por dos, ( $p < 0,002$ ), y además se mantiene significativamente aumentado en el periodo de 10 minutos posteriores a la estimulación (Registro 6). Por el contrario, y sorprendentemente, no se observa cambio alguno en la concentración de amilasa ni de proteína total ( Fig. 4 ), aunque las producciones son netamente superiores a los basales.

Entre los mamíferos en los que se ha estudiado este problema, se encuentran: 1º.- especies en las que clásicamente se admite que la estimulación vagal afecta casi exclusivamente al componente enzimático, como el



perro (109) y el gato (123), 2º. especies como el conejo (216) en que la influencia vagal se manifiesta escasamente sobre el flujo y de manera más clara sobre los enzimas, 3º otras especies como el cerdo (98) y el mandril (217) en que ambos componentes resultan muy sensibles a la estimulación vagal y 4º el caballo (2) y la oveja (232) en los que se observa un marcado efecto parasimpático sobre el flujo, sin cambios importantes en el contenido enzimático. El pollo se parece evidentemente a este último grupo y es obvio que resulte imposible establecer relación alguna de tipo filogenético, y ni siquiera con los hábitos alimentarios de cada especie, por lo que la excitación de estas diferencias y semejanzas permanece oscura por el momento.

La administración de acetil colina, en nuestras condiciones experimentales, ejerce un efecto ligero sobre el flujo (Fig.5, Registro 7) y la concentración de amilasa, positivo en ambos casos. No es de extrañar que el efecto sea ligero, ya que el fármaco se introduce en inyección simple y por vía endovenosa; en todo caso la mayor actividad amilásica (Fig.5) sugiere un estímulo colinérgico sobre la secreción enzimática, que quizá, en el caso de la estimulación vagal, esta enmascarado por la dilución debida al flujo grandemente elevado. En la Fig.23 se comparan las variaciones porcentuales que experimentan el flujo de jugo pancreático, las concentraciones de amilasa y proteína total y las producciones de las mismas, tras la estimulación vagal y la inyección de acetil colina.

Naturalmente todas las acciones de la acetil colina son abolidas por la atropinización previa, como era de esperar (Fig.7). En cuanto a la estimulación vaga



gal despues de atropinización (Fig.6, Registro 8), encontramos un efecto remanente sobre el flujo que no llega a ser significativo; el posible componente adrenérgico de la respuesta es despreciable como lo demuestra el hecho de que la estimulación vagal tras bloqueo alfa y beta adrenérgico reproduce los resultados de la estimulación por si sola (Fig. 28). Por ello debemos pensar, como ya hemos indicado en relación con las consecuencias del corte de los vagos o de la atropinización, en la existencia de fibras vagales probablemente peptidérgicas, aunque su estimulación no parece ser demasiado relevante en las actuales condiciones experimentales.

El hecho de que en el caballo (2), la oveja (232) y el pollo la estimulación parasimpática no modifique la concentración de enzimas, podría explicarse sobre la base de que en estas tres especies existe un componente hipersecretor de fluido no colinérgico que enmascare al estímulo colinérgico de la secreción enzimática, hipótesis que se ve reforzada por los datos que acabamos de discutir acerca de la distinta actuación de las fibras vagales y la acetil colina (Fig. 24).

Los cambios vasculares encontrados en nuestros ensayos son sorprendentes: (Fig.25) tanto la estimulación vagal como la inyección de acetil colina reducen el flujo de sangre de salida del pancreas, y ambos efectos se anulan por atropinización. En la Fig. 25, se representa la evolución temporal de la respuesta a la estimulación vagal; observamos un ligero aumento inicial del flujo de sangre, seguido de un descenso, y la recuperación se inicia antes de acabar la estimulación. Si la estimulación se realiza despues del bloqueo alfa y beta adrenérgico desaparece el incremento inicial



y la recuperación es más lenta. Parecería pues, que nos encontramos ante un efecto colinérgico vasoconstrictor, lo que no sería tan extraño en el pollo, en el que la acetil colina contrae la vena renal (177); pero el hecho de que el flujo de sangre inicie su restablecimiento antes del final de la estimulación puede indicar que el origen de la disminución del mismo se deba a un aumento general del volumen del lecho vascular, que poco después es balanceado por los ajustes circulatorios reflejos.

Si la primera hipótesis es correcta, la actuación vagal sobre la secreción pancreática es obviamente independiente de los cambios vasculares. Si la segunda es la cierta, no se podría descartar una posible influencia del flujo de sangre sobre la secreción pancreática. Sin embargo, en nuestra opinión, y de acuerdo con la información bibliográfica y la experiencia de nuestro Departamento en otras especies, lo más probable es que las fibras vagales ejerzan un auténtico efecto secretor.

### 5.3.2.-REGULACION NERVIOSA SIMPATICA

La infusión de adrenalina produce un marcado descenso en el flujo de jugo pancreático (Fig. 8, Registro 9), estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ), lo que está de acuerdo con los resultados descritos en mamíferos: conejo (132), mandril (217), perro (15), gato (11), cerdo (98) etc. La administración previa de agentes bloqueantes alfa (Fig. 11, Registro 12) o beta (Fig. 12, Registro 13) adrenérgicos no abole la respuesta, y la reduce solo ligeramente, siendo esta reducción más clara con el agente alfa-bloqueante.



En principio llama la atención encontrar un efecto de la adrenalina tan poco sensible a los bloqueantes adrenérgicos (Fig. 26); una posibilidad sería que el bloqueo no sea completo, ya que las dosis que hemos utilizado son las habituales en mamíferos; sin embargo (Registro 15) no creemos que esta sea la explicación, puesto que la hipertensión debida a la adrenalina no se manifiesta despues del bloqueo  $\alpha$ -adrenérgico en nuestras condiciones experimentales. Una hipótesis sugestiva seria admitir que la adrenalina actua en este caso a traves de receptores distintos de los  $\alpha$  y  $\beta$  adrenérgicos. Se ha descrito que la noradrenalina es un agonista parcial de los receptores dopaminérgicos (156), igualmente se ha indicado que la dopamina está presente en cantidades abundantes en el tracto digestivo (156) y diversos autores han señalado que la dopamina ejerce un potente efecto estimulante sobre la secreción exocrina del pancreas en el perro (66,75,90).

Por todo ello no parece aventurado sugerir la posibilidad de que, en nuestros ensayos, la adrenalina reduzca el flujo de jugo pancreático por inhibición competitiva con la dopamina. Esta hipótesis tendra que ser confirmada experimentalmente mediante el empleo de bloqueantes específicos de los receptores dopaminérgicos, como el haloperidol.

En cuanto a la composición, la adrenalina reduce las concentraciones de amilasa y proteina total (Fig. 8): el  $\alpha$ -bloqueante no evita este efecto (Fig. 11), pero el  $\beta$ -bloqueante impide el descenso en la actividad amilásica (Fig. 12). Parece pues, que no existe una activación de la secreción enzimática a traves de  $\beta$ -receptores; dicha activación, que es clara en las glándulas sa-



livares (138) no se ha demostrado convincentemente en el pancreas de mamíferos, hasta el punto de que Pascal y Vaysse (156) concluyen que el papel regulador beta-adrenérgico en el pancreas exocrino es ciertamente accesorio (Fig. 26).

Las modificaciones inducidas por la adrenalina en la secreción pancreática no pueden atribuirse a cambios vasculares; en efecto, el flujo de jugo pancreático cae, como hemos dicho, siempre que se infunde adrenalina, con independencia de que se haya administrado o no un agente bloqueante alfa o beta; en cambio el flujo de sangre de salida de la glándula se comporta de forma muy distinta en las tres situaciones experimentales (Fig. 21). La adrenalina produce junto con una respuesta hipertensora típica (Registro 15), un aumento en el flujo de sangre, aumento que es progresivo y que continúa haciéndose mayor después de cortar la infusión; ello parece sugerir que en la actuación de la adrenalina en estas condiciones predominan los efectos vasodilatadores, bien directos a través de  $\beta$ -receptores, o bien por la liberación de péptidos mediada por receptores alfa. Cuando se administra previamente un  $\alpha$ -bloqueante, la adrenalina no varía el flujo sanguíneo, mientras que si se utiliza un  $\beta$ -bloqueante la adrenalina de hecho reduce el flujo de sangre. Ello parece conceder una gran importancia a los receptores  $\beta$ , lo cual ya ha sido indicado en general para el sistema vascular del pollo (27).

Aun teniendo en cuenta las limitaciones de este método de medida del flujo de sangre, por el hecho de que cualquier maniobra, que pueda modificar la distribución intraglandular de la sangre entre vasos de intercambio y de derivación, ocasionara variaciones di-



fíciles de preveer sobre el flujo de salida, lo que si es ta claro es que el fuerte efecto inhibidor de la adrenalina sobre la secreción pancreática no es consecuencia de modificaciones circulatorias.

#### 5.4.- RESPUESTA A LA COMIDA

La respuesta pancreática exocrina a la comida en el pollo es espectacular, multiplicándose por cinco aproximadamente los flujos basales previos (Registro 14.) Una respuesta de tal magnitud no ha sido encontrada en nuestro Departamento en el perro (8) y en la bibliografía consultada solo es comparable a la descrita en el caballo. El pico de máximo flujo es independiente del volumen de ingesta (Fig. 14,15 y 16), pero la magnitud global de la respuesta guarda una correlación lineal estadísticamente significativa con la cantidad de comida ingerida (Fig.27). La concentración de proteína total en ningún caso aumenta de forma marcada (Fig. 14,15 y 16); para ingestas de 25 g. se aprecia incluso un descenso inicial, por dilución, que no aparece con ingestas superiores.

Estos hechos indican que los mecanismos responsables de la secreción de fluido y de enzimas son, al menos en parte, independientes, y que sus umbrales de excitación son distintos, siendo más altos para los enzimas; en nuestra opinión es probable que la liberación de proteínas se deba a mecanismos reflejos cortos desencadenados por la distensión del estómago y/o intestino delgado.

La producción de proteína total esta aumentada a consecuencia de la comida, y el incremento es



tanto mayor cuanto mayor sea la ingesta, hasta un máximo para 50 g. (Fig. 27), lo que, de acuerdo con nuestros controles histológicos, podría explicarse en base a la deplección de las células acinares en gránulos de zimógeno.

Dada nuestra experiencia, anteriormente comentada, sobre la existencia de un cierto ritmo circadiano en la secreción exocrina del pancreas en esta especie, la hora de la comida se fue modificando en cada caso según un procedimiento aleatorio; en consecuencia la respuesta a la ingesta observada por nosotros debe considerarse genuina en su totalidad.

En cuanto a la evolución temporal, el registro continuo (Registro 14) indica un periodo de latencia mínimo, inferior en todos los casos a un minuto, lo que claramente habla a favor de la preponderancia de las influencias nerviosas, al menos en la fase inicial. Por otra parte, la respuesta a la comida encontrada es cuantitativamente superior a la evocada por estimulación del tronco vagosimpático izquierdo en pollos anestesiados. Podemos admitir dos explicaciones fundamentales: en primer lugar, cabe que la anestesia deprima en parte los efectos vagales, aunque esto es improbable, ya que en nuestros ensayos apenas se puede hablar de anestesia, y más bien se trabaja bajo una sedación más o menos profunda; en segundo lugar, es posible que la estimulación afecte no solo a fibras vagales excitadoras, sino a otras inhibitoras probablemente adrenérgicas. Sea como sea, la intervención vagal debe ser importante, ya que según Kokue y Hayama (115) la vagotomía bilateral prácticamente anula la respuesta a la comida. En todo caso, los flujos postprandiales obtenidos por estos autores (115) son inferior



res a los nuestros, lo cual parece hablar a favor de una mejor situación fisiológica de nuestra preparación experimental.

Finalmente, y en contra de lo que se podía esperar, teniendo en cuenta la información en mamíferos (2), hemos observado que la simple presentación de la comida a los animales, sin permitir la ingestión, ocasiona una clara y sostenida respuesta de flujo de secreción pancreática, con incrementos del 200 al 400 % sobre los valores previos (Registro 14). Es preciso resaltar que ello ocurre a pesar de que, según observaciones directas, la conducta de los animales evidencia una situación de predominio simpático, que sería negativa para el flujo de jugo pancreático. Es decir que todo indica la existencia de una verdadera fase "psíquica" en la secreción del jugo pancreático en el pollo.





===== CONCLUSIONES =====



CONCLUSION 1ª.- El pancreas exocrino del pollo tiene una gran capacidad funcional, sobre todo en cuanto a la producción enzimática si se compara con el de los mamíferos estudiados. La secreción de reposo presenta un ritmo circadiano, tanto en flujo como en concentración de enzimas, existiendo correlación entre ambas variables. La presencia de bilis y jugo gástrico en el intestino delgado influye marcadamente sobre el flujo de jugo pancreático.

CONCLUSION 2ª.- En la secreción pancreática exocrina del pollo se cumple que la suma de las concentraciones molares de Sodio y Potasio equivale a la de Cloruro y Bicarbonato, lo que hasta ahora solo había sido comprobado en mamíferos.

CONCLUSION 3ª.- Gran parte de la secreción de reposo depende de factores intrínsecos a la glándula. Sin embargo existen influencias nerviosas tónicas: positivas y colinérgicas sobre la actividad enzimática, positivas  $\beta$ -adrenérgicas y probablemente peptidérgicas sobre el flujo y negativas igualmente sobre el flujo  $\alpha$ -adrenérgicas. Las influencias tónicas de tipo endocrino son despreciables.

CONCLUSION 4ª.- En el control parasimpático de la secreción pancreática exocrina en el pollo, el componente enzimático es exclusivamente colinérgico, mientras el hidromineral solo lo es en parte, sin que intervengan las fibras adrenérgicas, como se desprende de los resultados de la estimulación directa del tronco vago-simpático cervical, o de la administración de acetil colina, con o sin inyección previa de atropina o agentes bloqueantes  $\alpha$  y  $\beta$ -adrenérgicos.



CONCLUSION 5<sup>a</sup>.- La adrenalina ejerce un potente efecto inhibitor sobre la secreción de jugo pancreático, que, al menos en gran parte, no cursa a través de receptores  $\alpha$  ni  $\beta$ -adrenérgicos.

CONCLUSION 6<sup>a</sup>.- Aunque en algunas de las circunstancias experimentales existe relación entre la secreción exocrina del pancreas y el flujo sanguíneo de salida de la glándula, las influencias reguladoras observadas no se pueden explicar en base a cambios vasculares.

CONCLUSION 7<sup>a</sup>.- La respuesta del pancreas exocrino del pollo a la comida es proporcional al volumen de ingesta, en cuanto a flujo, y, hasta que se llega a un máximo, en cuanto a enzimas. La evolución temporal de dicha respuesta indica un claro predominio de los factores nerviosos, aun cuando el efecto es cuantitativamente superior al obtenido por estimulación vagal, en nuestras condiciones experimentales.

CONCLUSION 8<sup>a</sup>.- La simple presentación de la comida activa espectacularmente la secreción de jugo pancreático, es decir que en el pollo existe un componente "psíquico" en la respuesta a la ingestión de alimentos.



===== BIBLIOGRAFIA =====



BIBLIOGRAFIA

- 1.-Adrian, T.E., Bloom, S.R., Bryant, M.G. y col. (1976). Distribution and release of human pancreatic polypeptide. *Gut*. 156, 167-171.
- 2.-Alexander, F., Hickson, J.C.D. (1969). Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Proceedings of the third international Symposium. Cambridge. England. p.375.
- 3.-Alphin, R.S., Lin, T.M. (1959). Effect of feeding on pancreatic secretion of the rat. *Amer.J.Physiol.* 197, 260-262.
- 4.-Alric, R., Loubatières-Mariani, M., Loubatière, A., Puech, R. (1972). Récepteurs cholinergiques et sécrétion de glucagon. Etude sur le pancréas isolé et perfusé du rat. *C.R.Soc.Biol.(Paris)*. 166, 1030-1033.
- 5.-Angelucci, L., Baldieri, M., Linasi, G. (1970). The action of caerulein on pancreatic and biliary secretions of the chicken. *Eur.J.Pharmacol.* 11, 217-232
- 6.-Annis, D., Hallenbeck, G.A. (1951). Effect of excluding pancreatic juice from duodenum on secretory response of pancreas to a meal. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 77, 383-385.
- 7.-Anrep, G.V. (1916). The influence of the vagus on pancreatic secretion. *J.Physiol.* 50, 421.
- 8.-Aragón, M.C. (1974). Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Granada.
- 9.-Babkin, B.P., Hebb, C.O. y Sergeyeva, M.A. (1939). The parasympathetic-like effect of splanchnic nerve stimulation on pancreatic secretion. *Quart.J.Exptl. Physiol.* 29, 217-239.



- 10.-Ball, E.G., Tucker, H.F., Solomon, A.K., Vennesland, B. (1941). The source of pancreatic juice bicarbonate. *J.Biol.Chem.* 140, 119-129.
- 11.- Barlow, T.E., Greenwell, J.R., Harper, H.A., Scratcherd, T. (1971). The effect of adrenaline and noradrenaline on the blood flow, electrical conductance and external secretion of the pancreas. *J.Physiol* 217, 665-678.
- 12.-Barlow, T.E., Greenwell, J.R., Harper, H.A., Scratcherd, T. (1974). The influence of the splanchnic nerves on the external secretion blood flow and electrical conductance of the cat pancreas. *J.Physiol.* 236, 421-433.
- 13.-Barrowman, J., Brogan, D., Fordham, J., Hathorn, M., Mott, A., Rahilly, P. y Tiptaft, R. (1970). A possible diurnal rhythm in rat pancreatic secretion. *J.Physiol.* 208, 14p.
- 14.-Barrowman, J.A., Mayston, P.D. (1975). The trophic effect of pentagastrin on the pancreas. *En Gastrointestinal Hormones*. Ed. J.C.Thompson. Austin University of Texas Press. pp.231-247.
- 15.-Bastie, M., Vaysse, N., Pascal, J.P., Ribet, A. (1976). Role of dopaminergic mechanisms in the exocrine secretion of the pancreas. *Biol.Gastroenterol.* 9, 65-66.
- 16.-Baxter, S.G. (1931). Nervous control of pancreatic secretion in the rabbit. *Am.J.Physiol.* 96, 349-355.
- 17.-Bayliss, W.M., Starling, E.H. (1902). The mechanism of pancreatic secretion. *J.Physiol.* 28, 325.
- 18.-Beijer, H.J.M., Hulstaert, P.F., Brouwer, F.A.S., Charbon, G.A. (1979). The effect of secretin on peripheral arterial blood flow. *Arch.In.Pharm.Therapie.* 240, 269-277.



- 19.-Blair,E.L.,Harper,A.A.,Lake,H.J. The pepsin-stimulating effects of gastric and intestinal extracts in cats. *J.Physiol.* 121,20-21.(1953).
- 20.-Blair,E.L.,Brown,J.C.,Harper,A.A.,Scratcherd,T. (1966). A gastric phase of pancreatic secretion. *J. Physiol.* 184, 812-824.
- 21.-Bloom,S.R.,Bryant,M.G. (1973). Distribution of radioimmunoassayable gastrin, secretin,pancreozymn and enteroglucagon in rat,dog,and baboon gut. *J. Endocrinol.* 59.
- 22.-Bodansky,M.,Ondetti,M.A.,Levine,S.D.,Marajan,V.L., Von Saltza,J.T.,Williams,N.J.,Sabo,E.T. (1966). Synthesis of a heptacosapeptide amide with the hormonal activity of secretin. *Chem. Industr.* 42, 1757-1758.
- 23.-Bodanszky,M.,Klausner,Y.S.,Lin,C.Y.(1974). Synthesis of the vasoactive intestinal peptide (VIP). *J.Am.Chem.Soc.* 96, 4973-4978.
- 24.-Bodanszky,A.,Ondetti,M.A.,Mytt,V.,Bodanszky,M. (1969). Synthesis of secretin. IV.Secondary structure in a miniature protein. *J.Am.Chem.Soc.* 91, 944-949.
- 25.-Bodanszky,M. (1975).The secretin family and evolution. *En Gastrointestinal Hormones*. Ed. J.C. Tompson.Univ.Texas Press.pp.507-518.
- 26.-Boden,G. (1974). Secretin,Methods of Hormone Radioimmunoassay. Ed.B.M.Jaffe. New York,Academic Press. pp.275-288.
- 27.-Bolton,T.B. (1971). The physiology of the nervous System. *En Physiology and Biochemistry of the Domestic fowl*. Vol.2. pp.675-705.
- 28.-Bowen,J.C.,Fang,W.,Pawlik,W.y col.(1975). Gastrointestinal Hormones.J.C.Tompson.University of Texas Press.Austin. pp.391-400.



- 29.-Brettel,C. (1869). Beitr.Anat.Physiol. 4, p.89. Tomado de: Oral Physiology. Ed.Emmelin,N.y Zofherman Y. Proc.International Symposium.Werner-Grecenter. Pergamon Press.1972.
- 30.-Brown,J.C.,Harper,A.A. y Scratcherd,T. (1967). Potentiation of secretin stimulation of the pancreas. J.Physiol. 190, 519-530.
- 31.-Caple,I.,Heath,T. (1972). Regulation of output of electrolytes in bile and pancreatic juice in sheep. Aust.J.Biol.Sci. 25, 155-165.
- 32.-Case,R.M.y Clausen,T. (1973). The relationship between calcium exchange and enzyme secretion in the isolated rat pancreas. J.Physiol. 235, 75-102.
- 33.-Chaitman,B.,Preshaw,R.M. (1967). Effect of gastrin and gastric distension on gastric and pancreatic secretion in the rat. Can.J.Physiol Pharmacol. 45, 558-561.
- 34.-Chey,W.Y.,Hendricks,J.,Lorber,S.H. (1971). Inactivation of secretin by the liver. Clin. Res. 19, 389.
- 35.-Chey,W.Y.,Tai,H.H.,Rodes,R.y col. (1975). Radioimmunoassay of secretin: further studies. En Gastrointestinal Hormones. Ed.J.C.Thompson.University of Texas Press. pp.269-281.
- 36.-Comline,R.S.,Hickson,J.C.D.y Message,M.A. (1964). Nervous tissue in the pancreas of different species. J.Physiol. 170, 47-48.
- 37.-Comline,R.S.,Hall,L.W.,Hickson,J.C.D.,Murillo,A. y Walker,R.G. (1969). Pancreatic secretion in the horse. J.Physiol. 204, 10p.
- 38.-Crittenden,P.J.,Ivy,A.C. (1944). The nervous control of pancreatic secretion in the dog. Am.J.Physiol. 141, 730-737.



- 39.-Curtis,P.J.,Fender,H.R.,Rayford,P.L.,Thompson,J.C. (1976). Catabolism of secretin by the liver and kidney. *Surgery* 80, 259-265.
- 40.-Dal Monte,P.R.,Fiore,E.,Lodi,L.,Cremonini,R. (1967). Exocrine pancreatic secretion in man after a test meal. *Boll.Soc.Ital.Biol.Sper.* 43, 161.
- 41.-Davenport,H.W. (1968). *Fisiologia de la digestión.* 2ªEd. Interamericana. Mexico. p.133.
- 42.-Davis,M.,Gupta,S.,Elder,J.B. (1973). The effect of vagotomy on the exocrine pancreatic secretory response to pentagastrin and to a 400g. meat meal in dogs. *Br.J.Surg.* 60, 318.
- 43.-Dean,P.M.,Matthews,E.K. (1972). Pancreatic acinar cells, measurement of membrane potential and miniature depolarization potentials. *J.Physiol.* 225, p.1.
- 44.-Debas,H.T.,Konturek,S.J.,Grossman,M.I. (1972). Effect of extragastric and truncal vagotomy on pancreatic secretion in the dog. *Am.J.Physiol.* 288, 1172-1177.
- 45.-Debas,H.T.,Grossman,M.I. (1973). Pure Cholecystokinin; pancreatic protein and bicarbonate response. *Digestion* 9, 469-481.
- 46.-Debas,H.T.,Yamagishi,T. (1978). Evidence for piloro-pancreatic reflex for pancreatic exocrine secretion. *Am.J.Physiol.* 234,(5): 201-208.
- 47.-Debray,C.,Latour,J.,Roze,C.,Souchard,M. (1972). Action de l'acetylcholine sur la secretion pancreatique externe du rat: cinetique et relation dose-effet. *Biol.Gastroenterol. (Paris)*. 5, 61.
- 48.-Dimoline,R.,Dockray,G.J. (1979). Potent stimulation of the avian exocrine pancreas by porcine and chicken vasoactive intestinal peptide. *J.Physiol.* 294, 153-163.



- 49.-Dockray,G.R. (1973).Vasoactive intestinal peptide: secretin-like action on the avian pancreas. *Experientia* 29, 1510-1511.
- 50.-Dockray,G.J. (1973).The action of gastrin and cholecystokinin-related peptides on pancreatic secretion in the rat. *Quart.J.exp. Physiol.* 58, 163-169.
- 51.-Dockray,G.J.(1975). Comparison of the actions of porcine secretin and extracts of chicken duodenum on pancreatic exocrine secretion in the cat and turkey. *J.Physiol.* 244, 625-637.
- 52.-Dockray,G.J. (1978). Gastrin overview. *En Gut Hormones*.Ed.R.S.Bloom Churchill Livingstone. London. pp.129-139.
- 53.-Domschke,S.,Domschke,W.,Rösch,W.,Konturek,S.J., Sprügel,W.,Mitznegg,P.,Wünsch,W.,Demling,L. (1977). Vasoactive intestinal peptide:a secretin-like partial agonist for pancreatic secretion in man. *Gastroenterology* 73, (3) 478-480.
- 54.-Dyck,W.P.,Rudick,J.,Hoexter,B. y Janowit,H.D.(1969). Influence of glucagon on pancreatic exocrine secretion. *Gastroenterology* 56, 531.
- 55.-Dzieniszewski,J.,Tiscornia,O.M.,Palasciano,G.,Sarlles,H.(1974). Les effets du blocage alpha et beta adrenergique sur la secretion pancreatique exocrine du chien stimulee par la secretine et la cholecystocinine-pancreozymine (CCK-PZ). *Biol. Gastroenterol.* 7, 131-138.
- 56.-Ebeid,A.M.,Murray,P.,Fischer,J.E. (1977). Vasoactive intestinal peptide:The fourth physiological gut hormone ?. *Gastroenterology* 72, A-149/1172.
- 57.-Eisenberg,M.M.,Grassman,M.I. (1966). Pancreatic exocrine response to 2-deoxy-D-glucose,insulin,and histamina. *Surg.Forum.* 17, 349-351.



- 58.-Ertan,A.,Brooks,F.P.,Ostrow,J.D.,Arvan,D.,Williams,C.N.,y Cerda,J.J.(1971). Release of cholecystokinin-pancreozymin(CCK) and secretin from the proximal jejunum and the effect of topical anesthetic in man. *Gastroenterology* 60, 773.
- 59.-Ertan,A.,Brooks,F.P.,Arvan,D.,Williams,C.N.(1975). Mechanism of release of endogenous cholecystokinin by jejunal amino acid perfusion in man. *Digestive Diseases* 20 (9), 813-823.
- 60.-Esteller,A.,Hickson,J.D.C.,Murillo,A. Comunicación personal.
- 61.-Evans,D.H.L.,Murray,J.G. (1954). Histologic and functional studies on the fibre composition of the vagus nerve of the rabbit. *J.Anat.* 88, 320,337.
- 62.-Fahrenkrug,J.,Schaffalitzky de Muckadell,O.B.,Rune,S.J. (1978). pH threshold for release of secretin in normal subjects and in patients with duodenal ulcer and patients with chronic pancreatitis. *Scand. J.Gastroent.* 13, 177-186.
- 63.-Foley,J.D.,Du Bovis,F. (1937). Quantitative studios of the vagus nerve in the cat. *J.Comp.Neural* 67, 49-67.
- 64.-Fölsch,U.R.,Creutzfelde,W. (1977). Pancreatic duct cells in rat: secretory studies in response to secretin cholecystokinin-PZ, and gastrin in vivo. *Gastroenterology* 73, (5), 1053-1059.
- 65.-Forell,M.M.,Ottr,M.,Kohl,H.J.,Lehnert,P.y Stahlheber,H.P. (1971). The influence of bile and pure bile salts on pancreatic secretion in man. *Scand. J. Gastroent.* 6, 261-266.
- 66.-Furuta,Y.,Iwatsuki,K.,Takeuchi,O.,Hashimoto,K.(1972). Secretin-like activity of dopamine on canine pancreatic secretion. *Tohoku,J.Exp.Med.* 108, 353-360.



- 67.-Furuta,Y.,Hashimoto,K.,Iwatsuki,K.,Takeuchi,O.(1973) Effects of enzyme inhibition of catecholamine metabolism and of haloperidol on the pancreatic secretion induced by L-dopa and by dopamine in dogs. Br. J.Pharmacol. 47, 77-84.
- 68.-Furuta,Y.,Iwatsuki,K.,Hashimoto,K. (1974). Enhancement by cocaine of dopamine-induced pancreatic secretion. J.Pharmacol. 24, 5-24.
- 69.-Furuta,Y.,Hashimoto,K.,Ishii,Y., Iwatsuki,K. (1974). Modification by drugs of the secretagogue effect of dopamine on the pancreas. Br.J.Pharmacol. 51, 225-230.
- 70.-Garcia de Jalón,P.(1976). Parasimpaticomiméticos. En Farmacología y su proyección a la Clínica. 13ª Ed.B. Lorenzo Velazquez. Edit. Oteo. Madrid. pp.189-208.
- 71.-Go,V.L.W.,Hofman,A.F.,Summerskill,W.H.J. (1970). Pancreozymín bioassay in man based on pancreatic enzyme secretion:potency of specific amino acids and other digestive products. J.Clin.Invest. 49, 1558.
- 72.-Go,V.L.W. (1978). The physiology of cholecystokinin. En Gut Hormones. Ed.R.S.Bloom.Churchill Livingstone. London. pp. 203-207.
- 73.-Goldberg,L.I. (1975). The dopamine vascular receptor. Biochem. Pharmacol. 24, 651-653.
- 74.-Green,G.M.,Lyman,R.L. (1972). Feedback regulation of pancreatic enzyme secretion as a mechanism for trypsin inhibitor-induced hypersecretion in rats. Proc. Soc.Exp.Biol. 140, 6-12.
- 75.-Greengard,H.,Roback,R.A.,Ivy,A.C. (1942). The effect on pancreatic secretion. J.Pharmacol.Exp.Ther. 74, 309-318.
- 76.-Greenwell,J.R. y Scratcherd,T. (1974). The kinetics of pancreatic amylase secretion and its relationship to volume flow and electrical conductance in the anesthetized cat. J.Physiol. 239,(3), 443p.



- 77.-Gregory,R.A.,Tracy,H.J. (1964). The constitution and properties of two gastrins extracted from hog antral mucosa. *Gut.* 5, 103.
- 78.-Gregory,R.A. (1965). Secretory mechanisms of the digestive tract. *Ann.Rev.of Physiol.* 27, 395-414.
- 79.-Gregory,R.A.,Tracy,H.J. (1966). Memorial lecture:the isolation and chemistry of gastrin. *Gastroenterology* 51, 953-959.
- 80.-Gregory,R.A. (1974).The gastrointestinal hormones: a review of recent advances. *J.Physiol.* 241, 1.
- 81.-Gregory,R.A.,Tracy,H.J. (1975). The chemistry of the gastrins: some recent advances. *En Gastrointestinal Hormones*. Ed.J.C.Thompson, Austin,Texas,University Texas Press. pp.13-24.
- 82.-Grossman,M.I. (1969). Structure of secretin. *Gastroenterology* 57, 610-611.
- 83.-Guzman,S.,Chayvialle,J.A.,Banks,W.A.,Rayford,P.L. y Thompson,J.C. (1979). Effect of vagal stimulation on pancreatic secretion and on blood levels of gastrin, cholecystokinin, secretin, vasoactive intestinal peptide, and somatostatin. *Surgery* 86 (2), 329-336.
- 84.-Harper,A.A. (1967). Hormonal control of pancreatic secretion. *Tomado de Handbook of Physiology*.American Physiological Society. Washington D.C. Section 6, vol.II,p.969.
- 85.-Harper,A.A. y Vass,C.C.N. (1941). The control of the external secretion of the pancreas in cats. *J.Physiol.* 99, 415.
- 86.-Harper,A.A.,Kidd,C.,Scratcherd,T. (1959). Vagovagal reflex effects on gastric and pancreatic secretion and gastrointestinal motility. *J.Physiol.* 148, 17-436.
- 87.-Hart,W.M.,Thomas,J.E. (1945). Bicarbonate and chloride of pancreatic juice secreted in response to various stimuli. *Gastroenterology* 4, 409-420.



- 88.-Harty,R.F.,Rose,R.C.,Nahrwold,D.L. (1974). Stimulation of hepatic-like secretion by dopamine. *J.Surg. Res.* 17, 359-363.
- 89.-Harvey,R.F.,Dowsett,L.,Hartog,M. et col. (1973). A radioimmunoassay for cholecystokinin-pancreozymin. *Lancet* 2, 826-828.
- 90.-Hashimoto,K.,Sato,S.,Takeuchi,O. (1971). Effect of dopamine on pancreatic secretion in the dog. *Br.J. Pharmacol.* 43, 739-746,
- 91.-Hayama,T.,Magee,D.F.,White,T.T. (1963). Influence of autonomic nerves on the daily secretion of pancreatic juice. *A.Surg.* 158, 290-294.
- 92.-Hazelwood,R.L.,Turner,S.D.,Kimmel,J.R.,Pollock,H.G. (1973). Spectrum effects of a new polypeptide (thrid hormone ?) isolated from chicken pancreas. *Gen.Comp.Endocrinol.* 21, 485-497.
- 93.-Heatley,N.G.,McElheny,F.,Lepkovski,S. (1965). Measurement of the rate of flow of pancreatic secretion in the anesthetized chicken. *Comp.Biochem.Physiol.* 16, 29-36.
- 94.-Hedner,P.,Persson,H.,Rorsman,G. (1967). Effect of cholecystokinin on small intestine. *Acta Physiol. Scand.* 70, 250-254.
- 95.-Heilman,R.A.,Lum,B.K.B. (1971). Studies on the intestinal relaxation produced by dopamine. *J.Pharmacol.Exp. Ther.* 178, 63-70.
- 96.-Henriksen,F.W.,Worning,H. (1969). External pancreatic response to food and its relation to the maximal secretory capacity in dogs. *Gut.* 10, 209.
- 97.-Henriksen,F.W. (1974). Studies on the external pancreatic secretion. *Scand,J.Gastroenterol.(Suppl.)* 9, 26.
- 98.-Hickson,J.C.D. (1970). The secretion of pancreatic juice in response to stimulation of the vagus nerves in the pig. *J.Physiol.* 206, 299-322.



- 99.-Holst,J.J.,Schaffalitzky,O.B.,Fahrenkrug,J. (1979). Nervous control of pancreatic exocrine secretion in pigs. *Acta Physiol. Scand.* 105, 35-51.
- 100.-Holton,P. (1973). Catecholamines and gastric secretion. *En Pharmacology of Gastrointestinal Motility and Secretion. Vol. I.* Pergamon Press. pp.287-315.
- 101.-Hotz,J.,Zwicker,M.,Minne,H.,Ziegler,R. (1975). Pancreatic enzyme secretion in the conscious rat. Method and application. *Pflugers. Arch.* 353, 171.
- 102.-Hubel,K.A. (1970). Response of rabbit pancreas in vitro to adrenergic agonists and antagonists. *Am.J. of Phys.* 219, 1590-1594.
- 103.-Hubel,K.A. (1972). Secretin:a long progress note. *Gastroenterology* 62, 318.
- 104.-Hulan,H.W.,Moreau,G.,Bird,F.H. (1970). A method for cannulating the main pancreatic duct of chickens: the continuous collection of avian pancreatic juice. *Poultry Science* 51, 531-536.
- 105.-Ipp,E.,Dobbs,R.E.,Unger,R.H. (1978). Vasoactive intestinal peptide stimulates pancreatic somatostatin release. *FEBS Letters* 90,(1) 76-78.
- 106.-Ishihara,Y. (1972). Effect of tetragastrin,caerulein and pancreozymin on the enzyme secretion of the rabbit pancreas in vitro and in vivo. *Japan.J.Pharmacol.* 22, 728-730.
- 107.-Ivanov,N.,Gotev,R. (1962). *Arch.Tierernähr* 12,65-73. *Tomado de Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl.Vol.I.* Ed.D.J.Bell y B.M.Freeman. Academic Press. London. 1971. p.39.
- 108.-Johnson,L.R. (1974). *Gastrointestinal Physiology.* MTP International Review of Science,Physiology Series One, Vol.4. Ed.E.D.Jacobson,L.L.Shanbour.Baltimore,University Park Press. pp.1-43.



- 109.-Kaminski,D.L.,Ruwart,M.J.,Willman,V.L. (1975). The effect of electrical vagal stimulation on canine pancreatic exocrine function. *Surgery* 77, 545-552.
- 110.-Kempen,H.J.M.,De Pont,J.J.H.H.N. y Bonting,S.L. (1975). Rat pancreas adenylate cyclase.III.Its role in pancreatic secretion assessed by means of cholera toxine. *Biochim. Biophys. Acta.* 392, 276.
- 111.-Kim,M.S.,Lee,K.Y.,Chey,W.Y. (1979). Plasma secretin concentrations in fasting and posprandial states in dog. *Am.J.Physiol.* 263 (5), E539-E544.
- 112.-Kimmel,J.R.,Pollock,H.G.,Hazelwood,R.L. (1968). Isolation and characterisation of chicken insulin. *Endocrinology* 83, 1323-1330.
- 113.-Kimmel,J.R.,Pollock,H.G. (1975). Factors affecting blood levels of avian pancreatic polypeptide (APP); A new pancreatic hormone. *Fed.Procc.* 34, 454.
- 114.-Kimmel,J.R.,Pollock,H.G.,Hayden,L.J. (1978). Biological activity of avian PP in the chicken. *En Gut Hormones*. Ed.R.S.Bloom.Churchill Livingstone.London. pp.234-241.
- 115.-Kokue,E.,Hayama,T. (1972). Effects of starvation and feeding on the exocrine pancreas of the chicken. *Poultry Science*,Vol.51, 1366.
- 116.-Konturek,S.J.,Tasler,y Obtulowicz,W. (1972). Effect of atropine on pancreatic responses to endogenous and exogenous cholecystokinin. *Am.J.Dig.Dis.* 17, 911-915.
- 117.-Konturek,S.J.,Thor,P. (1973). Effect of diversion and replacement of bile on pancreatic secretion. *Am.J. Dig.Dis.* 18, 971.
- 118.-Konturek,S.,Radecki,T.,Pawlik,W.,Thor,P.,Biernat,J. (1974). The significance of vagus nerves in the regulation of pancreatic secretion. *Acta Physiol.Pol.* 25, 423-433.



- 119.-Konturek,S.J. (1974). Neurohormonal control of pancreatic secretion. Acta Gastro-Enterologica. Belgica XXXVII, 273-282.
- 120.-Korovitsky,L.K. (1923). The part played by the ducts on the pancreatic secretion. J.Physiol. 57,215-223.
- 121.-Larsson,L.I.,Fahrenkrug,J.,Holst,J.J.,Schaffalitzky de Muckadell,O.B. (1978). Innervation of the pancreas by vasoactive intestinal polypeptide (VIP) immunoreactive nerves. Life Sciences 22, 773-780.
- 122.-Lebovitz,H.E.,Feldman,J.M.(1973). Pancreatic biogenic amines and insulin secretion in health and disease. Fed.Proc. 32, 1797-1802.
- 123.-Lenninger,S.y Ohlin,P. (1969). Pancreatic secretion caused by vagal stimulation in the cat. J.Physiol. 204, p.27.
- 124.-Lenninger,S. (1971). Effects of parasympathomimetic agents and vagal stimulation on the flow in the pancreatic duct of the cat. Acta Physiol.Scand.82, 345-353.
- 125.-Lenninger,S. (1974). The autonomic innervation of the exocrine pancreas. Medical Clinics of North America, 58, 1311-1318.
- 126.-Lin,T.M.,Chance,R.E. (1974). En Endocrinology of the Gut. Ed.Chey W.W. and Brooks,F.P. Thorofare,New Jersey; Charles,B.Slack,Inc. p.143-145.
- 127.-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-E315.
- 128.-Lopez,M.A. (1972). Tesis Doctoral.Universidad de Granada. Granada.
- 129.-Lopez,M.A.,Lupiani,M.J.,Murillo,A. (1976). Influencias parasimpáticas sobre la secreción de jugo pancreático en el conejo.Rev.Esp.Fisiol. 32, 53-58.



- 130.-López, M.A., Esteller, A. (1979). Hormonas Gastrointestinales: Secretina. XVIII Congreso SECF. Valencia.
- 131.-Lupiani, M.J. (1976). Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Granada.
- 132.-Lupiani, M.J., M. de Victoria, E., López, M.A. Comunicación personal.
- 133.-Magee, D.F., White, T.T. (1965). Influence of vagal stimulation on secretion of pancreatic juice in the pig. *Ann. Surg.* 161, 605-607.
- 134.-Makhlouf, G.M., Said, S.I., Yau, W.M. (1974). Interplay of vasoactive intestinal peptide (VIP) and synthetic VIP fragments with secretin and octapeptide of cholecystokinin (octa-CCK) on pancreatic and biliary secretion (abstr). *Gastroenterology* 66, p.737.
- 135.-Makhlouf, G.M., Said, S.I. (1975). The effect of vasoactive intestinal peptide (VIP) on digestive and hormonal function. En *Gastrointestinal Hormones*. Ed. J.C. Thompson. University Texas Press. pp.599-610.
- 136.-Mangos, J.A., McSherry, N.R., Nousia-Arvanitakis, S., Scilling, R.F. (1974). Transductal flux of anions in the rat pancreas. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 146, 325.
- 137.-Mañas, M. (1973). Memoria de Licenciatura. Universidad de Granada. Granada.
- 138.-Martinez de Victoria, E., López, M.A. (1979). Influencias simpáticas sobre la secreción de saliva por la parótida del conejo. II. Efectos sobre la glándula sometida a estimulación parasimpática debil. *Rev. Esp. Fisiol.* 35, 181-186.
- 139.-Martinez de Victoria, E., López, M.A. (1979). Influencias simpáticas sobre la secreción de saliva por la parótida de conejo. I. Efectos sobre la glándula en reposo. *Rev. Esp. Fis.* 35, 175-180.
- 140.-Mellanby, J. (1925). The mechanism of pancreatic digestion. The function of secretin. *J. Physiol.* 60, 85.



- 141.-Meyer, J.H., Way, L.W., Grossman, M.I. (1970). Pancreatic response to acidification of various lengths of proximal intestine in the dog. *Am.J.Physiol.* 219, (4) 971-977.
- 142.-Meyer, J.H., Grossman, M.I. (1971). Release of secretin and cholecystokinin. En *Gastrointestinal Hormones: International Symposium at Erlangen*. Ed. L. Demling. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1972.
- 143.-Meyer, J.H. (1975). Release of secretin and cholecystokinin. En *Gastrointestinal Hormones*. Ed. J.C. Thompson. University of Texas Press. Austin. pp. 475-489.
- 144.-Miller, R.E. (1975). Neural inhibition of insulin secretion from the isolated canine pancreas. *Am. J. Physiol.* 229, 144-149.
- 145.-Moreland, H.J., Johnson, L.R. (1971). Effect of vagotomy on pancreatic secretion stimulated by endogenous and exogenous secretin. *Gastroenterology* 60, 425-431.
- 146.-Morisset, J., Webster, P.D. (1970). Effects of atropine on pigeon pancreas. *Am.J.Physiol.* 219, p.1286.
- 147.-Murillo, A., López, M.A. (1971). Contribution to the hormonal control of pancreatic secretion in the rabbit. *Rev.Esp.Fisiol.* 27, 131-138.
- 148.-Murillo, A., López, M.A. (1971). La secreción pancreática en el conejo. XIII Reunión de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas. Madrid. Diciembre 1971.
- 149.-Mutt, V., Jorpes, J.E. (1966). Proc. IV. International Symposium on the Chemistry of Natural Products. Stockholm. Sweden, Section 2C-3.
- 150.-Mutt, V., Jorpes, J.E. (1968). Structure of cholecystokinin-pancreozymin. I. Cleavage with thombin and with trypsin. *Europ.J.Biochem.* 6, 156.



- 151.-Noelting and Bernfield. (1948). Sur les enzymes amylolytiques:III.La  $\alpha$ -amylase; dosage d'activité et controle de l'absence d' $\beta$ -amylase. Hely, chim. Acta, 31, 286-290.
- 152.-Okamura, S. (1977). A guide book of animal experiment. Maruzen. Tokyo. pp.699-703.
- 153.-Parker, R.E. (1976). Estadística para bi logos. Ed. Omega. Barcelona.
- 154.-Pascal, J.P., Vaysse, N., Boucard, J.P., Laval, J., Ribet, A. (1972). Influence des hormones et des drogues sur la vasomotricité du pancréas isolé perfusé. Relations entre vasomotricité et sécrétion. Arch.Fr.Mal. App. Dig. 61, 103.
- 155.-Pascal, J.P., Vaysse, N. (1973). Rôle de la vasomotricite dans la regulation de la secretion pancreatique exocrine. Biol. Gastroenterol. (Paris) 6, 33.
- 156.-Pascal, J.P., Vaysse, N. (1976). Action du systeme adrenergique sur le pancreas exocrine. Biol. Gastroenterol. (Paris). 9, 243-254.
- 157.-Pavlov, I.P. (1893). Beitrage zur Physiologie de Absonderungen: Innervation der Baushspeicheldr se. Arch. Physiol.Suppl.Bd. 176-200.
- 158.-Pavlov, I.P. (1910). The word of the digestive glands. 2<sup>a</sup> ed. translated by W.H.Thompson, Philadelphia, lippincott. pp.59-64.
- 159.-Pederson, R., Schulz, I. (1974). The effect of isoproterenol on enzyme secretion from the isolated perfused cat pancreas. Biochim.Biophys.Acta 338, 440-446.
- 160.-Pemberton, R., Sweet, J.E. (1908). The inhibition of pancreatic activity by extracts of suprarenal and pituitary bodies. Arch.Inter.Med. 1, 628.
- 161.-Petersen, H., Berstad, A. (1971). Effect of pentagastrin on pancreatic secretion in man. Scand.J.Gastroenterol. 6; 483-488.



- 162.-Petersen,H.,Berstad,A.,Myren,J. (1972). The interaction between pentagastrin and cholecystokinin on pancreatic secretion in man (abstr). Scand.J. Gastroenterol. 7,(suppl 16); 32.
- 163.-Petersen,O.H. (1973). Mechanism of action of pancreozymin and acetylcholine on pancreatic acinar cells. Nature New biology. 244, 73.
- 164.-Pfaff,F. (1897).J.Boston Soc. med. Sci. 2, 10-18.
- 165.-Pfeffer,R.B. y Hinton,J.W. (1956). Some relationships between adrenol medullary and corticol substances and exocrine function of the pancreas in msn. Gastroenterology. 31, 746.
- 166.-Polak,J.M.,Pearse,A.G.E.,Garaud,J.C. et col. (1974). Cellular localization of a vasoactive intestinal peptide in the mammalian an avian gastrointestinal tract. Gut 15, 720-724.
- 167.-Polak,J.M.,Pearse,A.G.E.,Bloom,S.R. et col. (1975). Identification of cholecystokinin-secreting cells. Lancet 2, 1016-1018.
- 168.-Popielski,L. (1896). Uber secretorische Hemungsnerven des pankreas. Cent.Physiol. 10, 405-409
- 169.-Popielski,L. (1901). Uber das peripherische reflectorische Nervencentrum des Pankreas. Pflügers Arch. 86, 215-246.
- 170.-Post,J.A.,Hanson,K.M. (1975). Hepatic,vascular and biliary responses to infusion of gastrointestinal hormones and bile salts. Digestion 12, 65-77.
- 171.-Preshaw,R.M.,Grossman,M.I. (1965). Stimulation of pancreatic secretion by extracts of the pyloric glans area of the stomach. Gastroenterol. 48, 36-44.
- 172.-Raptis,S.,Dollinger,H.,Loube,H.,Rau,R.M.,Scroder,K.E.,Pfeiffer,E.J. (1973). Der einfluss von Atropin auf die durch intestinale Hormone induzierte Insulinsekretion desMenschen. Res.Exp.Med. 160, 234-247.



- 173.-Raptis,S.,Dollinger,H.,Chrissikü,M.,Rothenbuchner,G.,Pfeiffer,E.F.(1973). The effects on the  $\beta$ -receptor blocker (propranolol) on endocrine and exocrine pancreatic function in man after the administration of intestinal-hormone (secretin and cholecystokinin-pancreozymin). *Eur.J.Clin.Invest.* 3, 163-168.
- 174.-Rayford,P.L.,Fender,H.R.,Ramus,N.I. et col. (1975). Disappearance half-time of exogenous cholecystokinin from circulation in man and dogs. *Gastroenterology* 68, 971.
- 175.-Rayford,P.L.,Curtis,P.J.,Fender,H.R. (1975). Radioimmunoassay measurement of disappearance half-time of secretin in dogs. *Surg.Forum.* 26, 385-386.
- 176.-Reeder,D.D.,Becker,H.D.,Smith,N.J.,Rayford,P.L.,Thompson,J.C. (1973). Measurement of endogenous release of cholecystokinin by radioimmunoassay. *Ann. Surg.* 178, 304-310.
- 177.-Rennick,B.R.,Gandia,H. (1954). *Tomado de Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl.Vol.2.* Ed. Bell,D.J. y Freeman,B.M. Academic Press. London. 1971. *Proc. Soc.Exp.Biol.Med.* 85, 234-236.
- 178.-Ribet,A.,Pascal,J.P. (1968). *Le pancreas exocrine.* Masson e Cie. (Paris).pp.7-9.
- 179.-Robberecht,P.,Deschodt-Lanckman,M.,Lammens,M.,De Neef,P. y Christophe,J.(1977). In vitro effects of secretin and vasoactive intestinal polypeptide on hydrolase secretion and cyclic amp levels in the pancreas of five animal species.A comparison with caerulein. *Gastroenterol.Clin.Biol.* 1, 519-525.
- 180.-Robie,N.W.,Gretter,W.E.,Goldberg,L.I. (1974). Systemic and renal hemodynamic effects of dopamine and prostaglandin A alone and in combination. *Blood Vessels* 11, 86-95.



- 181.-Rosenberg, I.R., Gelrud, M., Rudick, J., Janowitz, H.D. (1972). Autonomic nervous system and canine pancreatic secretion. *Gastroenterol.* 62, 801.
- 182.-Rosemberg, I.R., Zambrano, V.J., Janowitz, H.D., Rudick, J. (1973). Parasympathetic innervation and pancreatic secretion. The role of gastric antra. *Gastroenterol.* 64, 869.
- 183.-Rozé, C., Debray, C., La Tour, J., Souchard, M., Vaille, C. (1974). Action de la phentolamine sur les secretions pancreatique externe et biliari chez le rat. *J. Pharmacol.* 5, 321-330.
- 184.-Said, S.I., Mutt, V. (1972). Isolation from porcine intestinal wall of vasoactive octacosapeptide related to secretin and to glucagon. *Eur.J.Biochem.* 28, 199-204.
- 185.-Said, S.I. (1978). VIR overview. *En Gut Hormones*. Ed. R.S. Bloom. Churchill Livingstone. London. pp. 465-469.
- 186.-Schaffalitzky de Muckadell, O.B., Fahrenkrug, J., Holst, J.J. (1977). Release of Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) by electric stimulation of the vagal nerves. *Gastroenterology* 72, 373-375.
- 187.-Schapiro, H., Wruble, L.D., Estes, J.W. et col. (1968). Anticholinergic drug action on pancreatic exocrine outflow in man and dog. *Am.J.Dig.Dis.* 13, 608-614.
- 188.-Schmidt, H.P., Goebell, H., Johannson, F. (1972). Pancreatic and gastric secretion in rats studied by means of duodenal and gastric perfusion. *Scand.J. Gastroenterol.* 7, 47.
- 189.-Sergeyeva, M.A. (1938). Microscopic changes in the pancreatic gland of the cat produced by sympathetic and parasympathetic stimulation. *Anat.Rec.* 71, 319-335.
- 190.-Sewell, W.A., Coroneo, M., Young, J.A. (1975). Bicarbonate secretion by the pancreas of the anaesthetized rat. *Digestion* 13, 123.



- 191.-Shinglenton,W.W.,Fawcett,B. y Vetter,J.S. (1950). Pancreatic secretion and response to secretin after vagotomy and sympathectomy. Surg.Forum. Proc. 36 th Congr. Am.Coll. Surgeons. (P155).
- 192.-Singh,M.,Webster,P.D., (1978). Neurohormonal control of pancreatic secretion. Gastroenterology 74, 295-309.
- 193.-Smaje,L.H. (1974). Spontaneous secretion in the rabbit submaxillary gland. En Secretory Mechanisms of exocrine glands. Alfred Benzon Symposium VII, Munksgaard, Copenhagen, p.608.
- 194.-Solcia,E.,Polak,J.M.,Buffa,R. (1975). Endocrine cells of the intestinal mucosa. En Gastrointestinal Hormones.Ed.J.C.Thompson.Austin University of Texas Press. pp. 155-168.
- 195.-Stening,G.F.,Grossman,M.I. (1969). Gastrin-related peptides as stimulants of pancreatic and gastric secretion. Am.J.Physiol. 217, 262-266.
- 196.-Still,E.U.,Bennett,A.L. y Scott,V.B. (1933). Tomado Handbook, vol.2, cap.52, pag.933 (38). Am.J. Physiol. 106, 509-523.
- 197.-Stock,C.,Stoebner,P.,Kachelochofer,J.,Grenier,J.F. (1972). Perfusion de pancreas isolé chez le chien. Etudes biochimiques et ultra structurales de la secretion externe stimulee. Biol. Gastroenterol. (Paris). 5, 163.
- 198.-Sturkie,P.D. (1965). Fisiologia Aviar. Ed.Acribia Zaragoza. p.521-525.
- 199.-Suda,Y.,Robinson,L.A.,Whitte,T.T. (1969). The effects of adrenergic blocking agents on pancreatic secretion in dogs. Ann.Surg. 169, 625-630.
- 200.-Sugawara,I.,Yanagisawa,J.,Eisenberg,M.M. (1973). Sustained vagal stimulation of the exocrine pancreas. Gastroenterology 64, 807.



- 201.-Sundler, F., Alumets, J., Hakanson, R., Fahrenkrug, J., Schaffalitzky de Muckadell, O. (1978). Peptidergic (VIP) nerves in the pancreas. *Histochemistry* 55, 173-176.
- 202.-Swan, K.G., Reynolds, D.G. (1971). Effects of intra-arterial catecholamine infusion on blood flow in the canine gut. *Gastroenterology* 61, 863-871.
- 203.-Takaki, M. (1979). Physiological and pharmacological studies on pancreatic duct smooth muscle in chicken. *Ital.J.Gastroenterol.* 11, 61-69.
- 204.-Takeuchi, O., Satoh, S., Hashimoto, K. (1974). Secretory and vascular response to various biogenic and foreign substances of the perfused canine pancreas. *Jap.J.Pharmacol.* 24, 57-73.
- 205.-Taylor, I.L., Feldman, M., Richardson, Ch.T., Walsh, J.H. (1978). Gastric and cephalic stimulation of human pancreatic polypeptide release. *Gastroenterol.* 75, (3), 432-437.
- 206.-Thambugala, R.L., Baron, J.H. (1971). Pancreatic secretion after selective and truncal vagotomy in the dog. *Brit.J.Surg.* 58, 839-844.
- 207.-Thomas, J.E. (1948). The functional innervation of the pancreas. *Rev. Gastroenterol.* 15, 813.
- 208.-Thomas, J.E. (1967). Neural regulation of pancreatic secretion. *Hand.Physiol.* VI, II, 955-968. Ed. Code, C.F. Am.Physiol.Soc. Washington D.C. 1967.
- 209.-Thompson, J.C., Fender, H.R., Ramus, N.I. et col. (1975). Cholecystinin metabolism in man and dogs. *Ann. Surg.* 182, 496-504.
- 210.-Thompson, J.C., Llanos, O.L., Schafmayer, A., Teichmann, R. K., Rayford, P.L. (1978). Mechanisms of release and catabolism of the secretin. *En Gut Hormones*. Ed.R. S.Bloom. Churchill Livingstone. London. New York.



- 211.-Tiscornia, O.M., Brasca, A.F., Hage, G., Palasciano, G., Devaux, M.A., Sarles, H. (1972). Les effets de l'atropine, du penthonium, de la vagotomie et du fluothane sur la secretion pancreatique du chien. *Biol. Gastroenterol. (Paris)*. 5, 249.
- 212.-Tiscornia, O.M. (1976). Controle nerveux cholinergique du pancreas. *Biol. Gastroenterol. (Paris)*. 9, (3) 255-275.
- 213.-Trendelenburg, V. (1967). Some aspects of the pharmacology of autonomic ganglion cells. *Ergeb. Physiol.* 59, 1-85.
- 214.-Turner, S.D., Hazelwood, R.L. (1973). Does histamine play a role in the secretogogic effect of avian pancreatic "gastrin"? *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 144, 852-856.
- 215.-Unger, R.H., Ketterer, H., Dupre, J., Eisentrant, A.M. (1967). The effects of secretin, pancreozymin and gastrin on insulin and glucagon secretion in anesthetized dogs. *J. Clin. Invest.* 46, 630-645.
- 216.-Vega, M.D.F., Esteller, A., Varela, G., Murillo, A. (1977). Algunos aspectos del control vagal de la secreción pancreática exocrina en conejos. *Rev. Esp. Fisiol.* 33, 211-216.
- 217.-Vega, D.F., Martinez de Victoria, E., Esteller, A., Murillo, A. (1977). Secretion of pancreatic juice in response to nervous and hormonal stimulation in the anaesthetized monkey (*Erhythrocebus patas* and *papio mandrillus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 58A, 259-264.
- 218.-Walsh, J.H., Richardson, C.T., Fordtran, J.S. (1975). pH dependence of acid secretion and gastrin release in normal and ulcer subjects. *J. Clin. Invest.* 55, 462-468.
- 219.-Walsh, J.H., Grossman, M.I. (1975). Gastrin. *New. Engl. J. Med.* 292, 1324-1332.



- 220.-Walther,A.A. (1897). The secretory work of de pancreatic gland. Thesis,St. Petesburg. Citado por Babkin,B.P.Secretory mechanism of the digestive glands. New York, Hoeber,1950, pag. 875.
- 221.-Watari,N. (1968). Fine structure of nervous elements in the pancreas of some vertebrates. *J.Zellf.* 85, 291.
- 222.-Watanabe,T.,Yasuda,M. (1977). Electron microscopic study on the innervation of the pancreas of the domestic fowl. *Cell.Tiss.Res.* 180, 453-465.
- 223.-Wheeler,H.O.,Mancusi-Hungaro,P.L. (1966). *Am.J.Physiol.* 210, 1153.
- 224.-White,T.T.,Magee,D.F. (1963). The splanchnic nerves and the gastropancreatic distension, reflex. *Gastroenterol.* 45, 698.
- 225.-Williams,J.A. (1975). An in vitro evaluation of possible cholinergic and adrenergic reception affecting pancreatic amylase secretion. *Proc.Soc.Exp. Biol.Med.* 150, 513.
- 226.-Wolfert,W.,Hartmann,W.,Hotz,J. (1974). Exocrine pancreatic secretion and output of bile in humans under conditions of hypoglycemia and administration of atropine. *Digestion* 10, 9
- 227.-Wormsley,K.G.,Mahoney,M.P.,Ng,M. (1966). Effects of a gastrin-like pentapeptide(I.C.I. 50,123) on stomach and pancreas.*Lancet* 1, 993-996.
- 228.-Wormsley,K.G. (1970). Stimulation of pancreatic secretion by intraduodenal infusion of bile salts. *Lancet* 2, 586-588.
- 229.-Yallow,R.S.,Berson,S.A. (1970). Size and change distinctions between endogenous human plasma gastrin in peripheral blood and heptadecapeptide gastrins. *Gastroenterology* 58, 609-615.



- 230.-Yalow,R.S.,Berson,S.A. (1972). And now,"big,big gastrin". Biochem.Biophys.Res.Comm. 48, 391-395.
- 231.-Young,J.D.,Lazarus,L.,Chisholm,D.J. (1968). Secretin and pancreozymin after glucose. Lancet 2, 914.
- 232.-Zamora,S.,Salido,G.M.,Esteller,A.,López,M.A.(1978). Influencias hormonales y nerviosas sobre las secreciones biliar y pancreática en la oveja anestesiada. Libro de las ponencias del XVIII Congreso de la SECF. Valencia.
- 233.-Zieve,L.,Vogel,W.C. y Kelly,W.D. (1963). Species difference in pancreatic lipolytic and amylolytic enzymes. J.Appl.Physiol. 18, 77-82.