

**SECRECIÓN BILIAR EN EL CABRITO LACTANTE ANESTESIADO.
EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN EXÓGENA DE SECRETINA
Y COLECISTOQUININA-PANCREOZIMINA**

Luis Raggi S. (MV, DMV), Jorge Crossley C. (MV), Alejandro Albala B. (MV),
Waleska Lazo A. (MV)

**BILIARY SECRETION IN THE ANAESTHETIZED PRERUMINANT GOAT.
EFFECTS OF EXOGENOUS ADMINISTRATION OF SECRETIN
AND CHOLECYSTOKININ-PANCREOZYMIN**

The purpose of this work is to study the effect of exogen administration of secretin and cholecystokinin-pancreozymin (CCK-PZ) on the flow and composition of bile in the anaesthetized lactating goat with a biliary cannula. Twenty lactating goats, ranging between 4-5 kg body weight were used. They were distributed in 2 groups of 10 animals; one group was treated with different doses of secretin, and the other with different doses of CCK-PZ.

Rapid intravenous injection of porcine secretin, shows a clear stimulatory action on the biliary flow, and increasing the taurocholate and chlorine production in bile, at a dose of 0.16 U/kg body weight. Porcine CCK-PZ applied in the same way that secretin, increased the bile flow and the production of the analyzed components at the same dose that secretin (0.16 U/kg) but the response shows a short lag period and a pulsatile flow resembling a gallbladder contraction. These results may reflect the existence of receptors to secretin and CCK-PZ, showing a great sensibility of the lactating goat to these hormones.

La ingestión de alimentos va acompañada, casi siempre, por un aumento en la formación de bilis (Jones y Grossman, 1969) y del volumen de bilis secretado a duodeno. Esto último puede deberse, por una parte, a la liberación de secretina y a su posterior efecto aumentando la fracción ductular independiente de sales biliares (Wheeler y col., 1968). En el mismo sentido, aunque en menor grado, actuaría la colecistoquinina-pancreozimina (CCK-PZ), hormona que además daría lugar a una contracción de la vesícula biliar, con el consecuente aumento en el aporte de bilis a duodeno, como se ha descrito en distintas especies (Esteller y col., 1977; Steiner y Carruthers, 1961). Todo lo expuesto se acompaña de un incremento de la fracción canicular dependiente de las sales biliares, ya que la contracción de la vesícula biliar hace que aumente conside-

rablemente el "pool" de ellas y consecuentemente se acelere la circulación enterohepática.

El principal factor que estimula la liberación de secretina, hormona polipeptídica producida en las células S del duodeno (Polak y col., 1971), es la acidificación del duodeno, lo que ocurre tanto en el hombre como en la mayoría de las especies animales estudiadas (Walsh, 1981). Los trabajos de Schorregge (1933) en cabras adultas, aportan como resultado un aumento en la secreción de bilis frente a la instilación de HCl en duodeno, siendo la bilis secretada después de una comida más diluida que la secretada durante los períodos interdigestivos.

Trabajos realizados por Heath (1970), demuestran que el flujo de bilis en el ovino aumenta rápidamente tras la administración de secretina, mientras que la concentración de sales biliares disminuye. Esta hormona ejerce su principal efecto a nivel de hígado, incrementando el volumen de agua y la concentración de bicarbonato y cloro (Jones y col., 1971; Esteller y col., 1977). También tiene un importante efecto a nivel de la vesícula biliar donde suprime la absorción de agua, sodio y bicarbonato, y reduce fuertemente la absorción de cloro y potasio, pero no influye en la motilidad de ésta cuando

Departamentos de Ciencias Biológicas Animales y Ciencias Clínicas.

Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile. Casilla 2, Correo 15.
Santiago, Chile.

Trabajo financiado por Proyecto A 2419-8833 DIB, Universidad de Chile.

se administra sola (Jansson, 1978), sin embargo al ser administrada conjuntamente con CCK-PZ, puede potenciar la contracción vesicular causada por esta última (Walsh, 1981).

La CCK-PZ, hormona polipeptídica producida a nivel de duodeno y en su forma de octapéptido a nivel cerebral (Calam y col., 1982), posee un gran efecto estimulante de la contracción de la vesícula biliar y de la relajación del esfínter de Oddi (Lin, 1975; Jansson, 1978), sin influenciar el transporte de agua a través de la pared vesicular (Jansson, 1978). Es importante destacar que los efectos de este péptido no son antagonizados por atropina u otros bloqueadores nerviosos, lo que sugiere un efecto directo sobre el músculo vesicular (Yau y col., 1973). La liberación de CCK-PZ se ve influenciada por la llegada del alimento a duodeno, sin embargo, se ha descrito que los "compuestos" grasos son los estimulantes más importantes de la liberación CCK-PZ cuando son introducidos en el intestino delgado. También se ha observado que la presencia de ciertos aminoácidos estimulan su liberación (Walsh, 1981).

No existen en la actualidad antecedentes sobre la presencia de secretina y CCK-PZ en los rumiantes, ya que dichas hormonas no han sido aisladas en estos animales, aunque existen claras evidencias de su presencia, resultados obtenidos siempre en forma indirecta ya sea por inoculación de ellas, o por introducción en duodeno de HCl y ácidos grasos, los que han sido reconocidos ampliamente como factores liberadores.

En este trabajo se pretende describir y caracterizar la respuesta biliar frente a la estimulación exógena con secretina y CCK-PZ en cabritos lactantes, situación que en la literatura consultada apenas si se ha tratado y se considera importante considerando que en esta etapa de la vida, dichos animales se comportan básicamente como monogástricos.

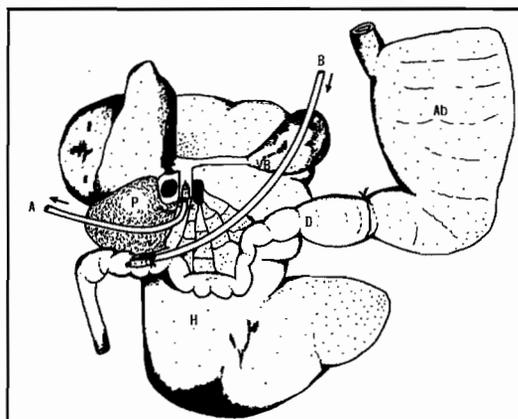
MATERIAL Y METODOS

Se utilizó un total de veinte cabritos lactantes, de pesos comprendidos entre 4-5 kilos, con edades fluctuantes entre los 10 y 20 días aproximadamente. Los animales fueron distribuidos en dos grupos: secretina y CCK-PZ con diez animales cada uno. El período de ayuno previo a las intervenciones quirúrgicas se estandarizó en 12 horas, si bien durante este tiempo los animales tuvieron libre acceso al agua.

Los animales fueron anestesiados por vía endovenosa a través de una cánula plástica introducida en la vena yugular, con tiopental sódico (MR) en dosis de 20 mg/kg de peso, administrado en forma lenta y progresiva, controlando signos vitales y reflejos corneal, ocular y deglutorio. Posteriormente

se realizó una intubación endotraqueal, utilizando un tubo RUSH de neumotaponamiento con el fin de facilitar la respiración; además, se infundió una solución de suero salino isotónico temperado (38°C) en la vena yugular, mediante un perfusor de goteo continuo con un flujo de 10 ml/kg/h. Con el fin de registrar posibles modificaciones de presión arterial por efecto de las hormonas se canuló la arteria femoral, conectando el catéter a un transductor de presión (Statham P23AA).

Tras llevar a cabo una laparotomía lateral derecha de 7 a 10 cm paralela a última costilla y a 1 cm de ésta, se localizó el conducto pancreato-biliar común, realizando una incisión en pico de flauta a 4 mm de la unión del conducto biliar con el conducto cístico procediendo a canular con un catéter de Silastic (MR) de un diámetro externo de 2 mm y de un diámetro interno de 1 mm, cuyo extremo distal se conectó a un cuentagotas fotoeléctrico (Palmer MK II) con el fin de registrar las modificaciones de flujo biliar (Raggi y col., 1985). Entre el segmento canulado y la desembocadura del conducto pancreático se ligó el colédoco con el fin de evitar un reflujo de jugo pancreático, permitiendo el avance de esta secreción sólo en dirección al duodeno. Una segunda incisión se realizó en duodeno, 1 cm posterior al esfínter de Oddi, con el fin de reingresar la bilis, evitando la interrupción de la circulación enterohepática de sales biliares. Para ello se insertó un catéter que se fijó por medio de una sutura en bolsa de tabaco. Antes de cerrar la cavidad abdominal se procedió a ligar el píloro mediante una transfixión con seda (Braun N° 0, MR), con el fin de evitar el vaciamiento espontáneo de contenido abomasal lo que produciría interferencias en la respuesta frente a la inoculación de las hormonas (figura 1).



A = Cánula colédocal que recoge el flujo biliar y se conecta al cuentagotas fotoeléctrico.
B = Cánula duodenal para el reingreso de bilis a duodeno.
Ab, Abomaso; D, duodeno; H, hígado; P, Páncreas; VB, Vesícula Biliar.

Figura 1. Representación esquemática de la colocación de las cánulas.

El registro de presión arterial y de flujo biliar se realizó en un polígrafo (Physiograph, E. & M. Houston).

La inyección de las hormonas, secretina porcina (Calbiochem A grade, 80-120 unidades clínicas/ml, 1 unidad clínica \approx 4 unidades Crick Harper Raper) y CCK-PZ porcina (Calbiochem B grade, 10 unidades Ivy/ml, 1 unidad Ivy \approx 1 unidad Crick Harper Raper) se realizó a través de una cánula plástica en la vena yugular. Ambas hormonas fueron diluidas en 10 ml de solución salina 0,9%.

Previo a inoculación de las hormonas se registró el flujo basal de bilis en un período de 30 minutos, posteriormente y como control se inyectó en la vena yugular 1 ml de solución salina 0,9%, correspondiendo dicho volumen al utilizado como vehículo para las hormonas.

Los animales fueron sometidos a dosis crecientes en duplicación de las respectivas hormonas, secretina o CCK-PZ, siendo las dosis utilizadas 0,02, 0,04, 0,08, 0,16, 0,32 y 0,64 U/kg. Entre inyecciones de diferentes dosis se esperó alcanzar los flujos basales. Después de cada administración de hormona, se esperó que la secreción de bilis alcanzara un volumen equivalente a la capacidad del catéter (calculado en 26 gotas), y posterior a este flujo se recolectó la muestra alícuota. La bilis secretada durante el curso de los experimentos y previa obtención de la muestra alícuota, fue reingresada a duodeno con el fin de evitar el secuestro de sales biliares.

Las alícuotas de bilis obtenida durante los ensayos fueron almacenadas a -20°C para su posterior análisis, midiéndose en estas muestras la concentración de taurocolato, sal biliar mayoritaria en la especie caprina, utilizándose la técnica de Irvin y col. (1944), y cloruro utilizándose un clorhidrómetro (Buchler Instruments) que trabaja a base de un principio colorimétrico-amperométrico.

Se calculó el valor medio y desviación estándar de la media de las muestras pertenecientes a una misma dosis. Se efectuaron pruebas de correlación para verificar asociación dosis-respuesta; y análisis de varianza para determinar significancia entre los flujos o composición basales y los obtenidos bajo el efecto de las distintas dosis de hormonas. Para determinar aquellas dosis cuyos resultados eran significativamente diferentes a los basales, se utilizó la prueba de Student Newman Keuls, que detecta las mínimas diferencias significativas entre promedios.

RESULTADOS

El flujo basal de bilis en el cabrito lactante anestesiado fue $14,6 \pm 4,1 \mu\text{l/kg/min}$ ($n = 20$), no existiendo diferencias significativas de estos flujos entre los dos grupos experimentales. Tampoco se ob-

servaron diferencias significativas del flujo basal de bilis al inyectar suero fisiológico 0,9% en la vena yugular.

En relación a las sales biliares y cloruro las concentraciones basales fueron de $17,4 \pm 2,8 \text{ mg/l}$ ($n = 20$) y de $111 \pm 2,5 \text{ mEq/l}$ ($n = 20$), respectivamente, no existiendo diferencias significativas entre los dos grupos experimentales y al igual que en las observaciones de flujo, no se observan variaciones al inocular suero fisiológico 0,9% en la vena yugular.

La inoculación de secretina produce un aumento en el flujo de bilis, siendo este incremento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) con respecto a los valores basales a partir de la inyección de 0,16 U/kg, sin embargo, la respuesta no sigue aumentando significativamente frente a dosis mayores de la hormona, el efecto dosis-respuesta tiene una alta correlación ($r = 0,99$), ajustándose a una curva de regresión logarítmica (figura 2). Con respecto a la conducta del taurocolato, la variación en la concentración no tiene una tendencia definida al inocular dosis crecientes de la hormona, aún cuando los valores son más bajos que el basal sin haber diferencias estadísticamente significativas (cuadro 1). No ocurre lo mismo con la producción de taurocolato (flujo \times concentración) que sufre un gran incremento sobre el basal, aumento que se hace estadísticamente significativo ($p < 0,05$) a la dosis de 0,32 U/kg (figura 3). Lo mismo se observa con la producción de cloruro que aumenta sobre el basal a valores estadísticamente significativos ($p < 0,05$) a la dosis de 0,08 U/kg (figura 4), aunque su concentración se mantiene estable (cuadro 1).

La inoculación de CCK-PZ, al igual que secretina produce un incremento del flujo de bilis sobre los valores basales que muestran diferencias significa-

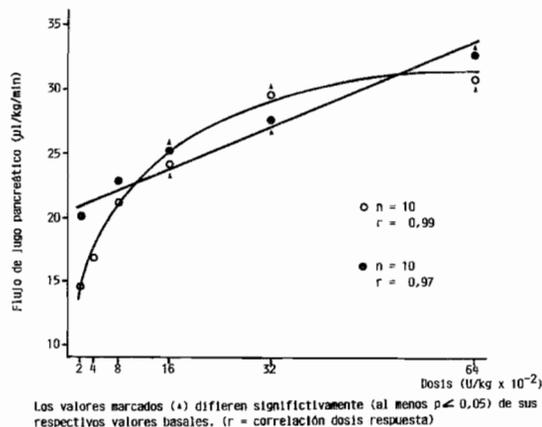


Figura 2. Variación del flujo de bilis por inyección de secretina (○) y CCK-PZ (●).

CUADRO 1
FLUJO DE BILIS ($\mu\text{l}/\text{kg}/\text{min}$) Y CONCENTRACION DE TAUROCOLATO (mg/ml)
Y CLORURO (mEq/l) EN RESPUESTA A LA INOCULACION DE DIFERENTES DOSIS
DE SECRETINA Y CCK-PZ

Dosis U/kg	Flujo		Taurocolato		Cloruro	
	Secretina	CCK-PZ	Secretina	CCK-PZ	Secretina	CCK-PZ
Basal	13,3 \pm 1,5	15,9 \pm 1,1	15,5 \pm 2,2	19,3 \pm 3,9	117 \pm 3,5	105 \pm 2,5
Control	13,5 \pm 1,8	16,6 \pm 0,9	15,7 \pm 2,2	21,9 \pm 4,0	117 \pm 3,6	105 \pm 2,0
0,02	14,7 \pm 1,0	20,2 \pm 1,5	13,8 \pm 1,7	22,4 \pm 3,8	118 \pm 4,1	106 \pm 3,5
0,04	16,9 \pm 1,8	21,7 \pm 1,1	16,3 \pm 3,1	27,5 \pm 4,3	120 \pm 3,9	104 \pm 3,9
0,08	21,2 \pm 1,9	22,9 \pm 1,6	13,9 \pm 2,4	24,4 \pm 3,9	116 \pm 4,1	107 \pm 2,8
0,16	24,1 \pm 2,1*	25,2 \pm 1,5*	13,6 \pm 2,1	28,5 \pm 3,7	116 \pm 4,3	104 \pm 3,7
0,32	29,5 \pm 1,8*	27,6 \pm 2,1*	14,1 \pm 3,1	23,5 \pm 3,7	113 \pm 4,8	105 \pm 3,9
0,64	30,8 \pm 2,4*	32,7 \pm 1,9**	11,5 \pm 1,4	21,2 \pm 3,3	112 \pm 4,8	105 \pm 4,1

Los valores representan la media \pm error estándar de la media.

Control = 1 ml suero fisiológico 0,9%.

* = $p < 0,05$ respecto del valor basal.

** = $p < 0,01$ respecto del valor basal.

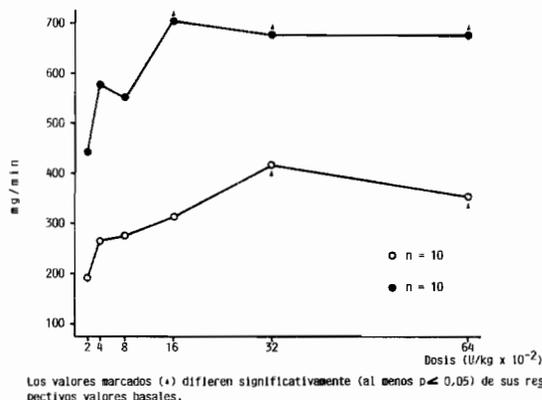


Figura 3. Variación de la producción (flujo \times concentración) de taurocolato en bilis por inyección de secretina (○) y CCK-PZ (●).

tivas ($p < 0,05$) para la dosis de 0,16 y 0,32 U/kg y ($p < 0,01$) para la dosis de 0,64 U/kg (cuadro 1). La correlación dosis-respuesta es muy alta ($r = 0,97$), ajustándose a una curva de regresión de tipo lineal (figura 2). La concentración de taurocolato aumenta al inocular 0,04 y 0,16 U/kg (cuadro 1), aumentos que se hacen más evidentes al observar la producción de esta sal orgánica (figura 3).

La concentración de cloruro no se modifica significativamente (cuadro 1), destacando el hecho que las variaciones observadas son opuestas a las observadas para taurocolato. Sin embargo su producción se incrementa al aumentar la dosis de CCK-PZ (figura 4).

Finalmente al observar la respuesta del flujo

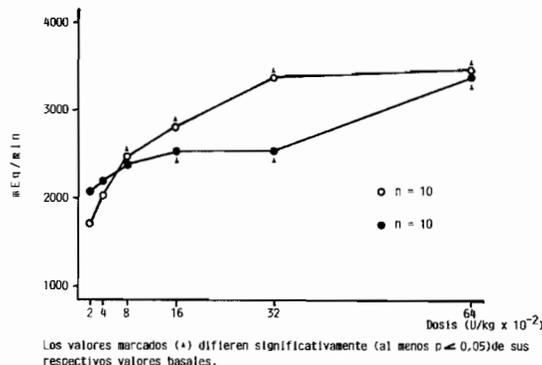


Figura 4. Variación de la producción (flujo \times concentración) de cloruro en bilis por inyección de secretina (○) y CCK-PZ (●).

biliar frente a la inoculación de secretina CCK-PZ, queda claro el hecho que frente a ambas hormonas hay un incremento en el flujo, aunque existen importantes diferencias en relación al comportamiento en el tiempo, ya que en el caso de secretina la respuesta muestra una latencia mayor que la observada para CCK-PZ. Por otro lado, la secretina induce un incremento uniforme de flujo, en circunstancia que con la CCK-PZ el aumento es irregular con alternancia de incrementos y disminuciones, es decir, un comportamiento pulsátil (figura 5).

En relación a presión arterial, ésta no mostró variaciones en el transcurso de los experimentos ni se modificó frente a la inoculación de las hormonas ensayadas (figura 5).

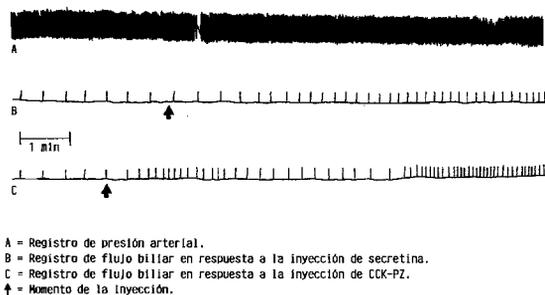


Figura 5. Registro poligráfico de presión arterial y flujo biliar.

DISCUSION

El flujo y concentraciones basal de taurocolato y cloruro muestran gran similitud con los valores basales obtenidos en cabritos lactantes con fístula biliar crónica (Raggi y col., 1986).

Existe un claro incremento en el flujo de bilis y en la producción de taurocolato y cloruro frente a la administración de secretina y CCK-PZ porcina; este hecho, demuestra por una parte la existencia de receptores para ambas hormonas en el hígado y vesícula biliar del caprino y, por otra parte, que la secuencia de aminoácidos que conforman la cadena polipeptídica de secretina y CCK-PZ porcina serían activos en el caprino al igual que en otras especies en las que se ha estudiado la respuesta biliar y pancreática exocrina (Esteller y col., 1977; Wheeler y col., 1968; Salido y col., 1985). La sensibilidad del cabrito lactante a la acción de las dos hormonas ensayadas es muy alta, ya que al comparar nuestros resultados con los obtenidos en conejos (Esteller y col., 1977), ovejas (Caple y Heath, 1975) y perros (Jones y Grossman, 1969), se observa que las dosis son muy inferiores a las necesarias para estimular el flujo biliar en estos animales (cuadro I).

La respuesta a la administración de secretina requiere un período de la latencia más largo que el requerido para CCK-PZ, esto se debe a que secretina actúa principalmente aumentando la secreción de bilis a nivel del canalículo hepático (Wheeler, 1968), mientras que el efecto de la CCK-PZ es más rápido, debido a que esta hormona produce una contracción de la vesícula biliar (Lin, 1975; Jansson, 1978).

Al analizar los resultados de flujo biliar y producción de taurocolato y cloruro, se puede concluir que el incremento en el flujo posterior a la administración de secretina se debe fundamentalmente a un efecto directo sobre hígado, ya que se obtienen bajas producciones de taurocolato y altas producciones de cloruro lo que es característica típica de acción de esta hormona (Jones y col., 1971). En

cambio la respuesta a la administración de CCK-PZ muestra una clara contracción vesicular, producto del comportamiento irregular y pulsátil de flujo y en segundo lugar porque la producción de taurocolato es alta y la producción de cloruro es más baja que la observada frente a la administración de secretina; estas características son típicas de la bilis que proviene de vesícula biliar (Jansson, 1978).

Lo anteriormente expuesto lleva a concluir que los mecanismos de acción de las hormonas gastrointestinales secretina y CCK-PZ en el cabrito lactante son similares a los observados en monogástricos.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de la administración exógena de secretina y CCK-PZ sobre el flujo y composición de la bilis en el cabrito lactante anestesiado. Se utilizaron 20 cabritos lactantes de 4-5 kilos distribuidos en dos grupos de animales cada uno; un grupo fue tratado con diferentes dosis de secretina y otro grupo con diferentes dosis de CCK-PZ. A todos los animales se les implantó una cánula biliar en el colédoco.

La secretina porcina, en inyección intravenosa rápida, tuvo una clara acción estimulando el flujo biliar e incrementando las producciones de taurocolato y cloruro en bilis, a partir de una dosis de 0,16 U/kg de peso corporal. La CCK-PZ porcina, al igual que secretina produce un incremento en el flujo de bilis y en la producción de los componentes analizados a partir de 0,16 U/kg, sin embargo, la respuesta muestra un período de latencia menor que para secretina y tiene una conducta pulsátil, reflejando una contracción de la vesícula biliar. Estos resultados pueden reflejar la posible existencia de receptores para secretina y CCK-PZ, mostrando además una gran sensibilidad del cabrito lactante a dichas hormonas.

REFERENCIAS

- CALAM, J.; A. ELLIS, G. DOCKRAY. Identification and measurement of molecular variants of cholecystokinin in duodenal mucosa and plasma: diminished concentrations in patients with celiac disease. *J. Clin. Invest.* 69: 218-225, 1982.
- CAPLE, I.; T. HEATH. Biliary and pancreatic secretion in the sheep: Their regulation and roles. In: *Digestion and Metabolism in the Ruminant. Proceeding of the IV International Symposium on Ruminant Physiology*, Edited by Mc Donald, I., A. Warner, 91-100, 1975.
- ESTELLER, A.; M. LÓPEZ, A. MURILLO. The effect of secretin and cholecystokinin-pancreozimin on the secretion of the bile in the anaesthetized rabbit. *Quart. J. Exp. Physiol.* 62: 359-369, 1977.
- HEATH, T. Effect of secretin on bile formation in sheep. *Quart. J. Exp. Physiol.* 55: 301-312, 1970.

- IRVIN, J.; C. JOHNSTON, J. KOPOLA. A photometric method for the determination of cholates in bile and blood. *J. Biol. Chem.* 153: 439-457, 1944.
- JANSSON, R. Effect of gastrointestinal hormones on concentrating function and motility in the gallbladder. *Acta Physiol. Scand.* 456: 2-37, 1978.
- JONES, R.; M. GROSSMAN. Choleric effects of secretin and histamine in the dog. *Am. J. Physiol.* 217: 532-535, 1969.
- JONES, R.; R. GEIST, A. HALL. The choleric effect of glucagon and secretin in the dog. *Gastroenterology* 60: 64-68, 1971.
- LIN, T. Actions of gastrointestinal hormones and related peptides on the motor function of the biliary tract. *Gastroenterology*. 69: 1006-1022, 1975.
- POLAK, J.; I. COULLINS, S. BLOOM, A. PEARSE. Immunofluorescent localization of secretin and enteroglucagon in human intestinal mucosa. *Scand. J. Gastroenterol.* 6: 739-744, 1971.
- RAGGI, L.; M. MAÑAS, E. MARTÍNEZ DE VICTORIA, M. LUPIANI, F. MATAIX. Biliary secretion in the conscious pruruminant goat: use of a re-entrant cannula. *Lab. Animals.* 19: 35-38, 1985.
- RAGGI, L.; J. BOZA, E. MARTÍNEZ DE VICTORIA, M. MORENO, J. MATAIX. Secreción biliar en la cabra. I. Respuesta a la alimentación en cabritos lactantes. *Archivos de Zootecnia.* 35: 69-78, 1986.
- SALIDO, G.; L. RAGGI, S. MADRID. Efectos de la secretina y colecistoquinina-pancreozimina exógena sobre la secreción pancreática exocrina en el pollo. *Av. Cs. Vet.* 1: 35-40, 1986.
- SCHOREGGE, B. Beiträge zur gallensekretion beim wiederkäuer. *Arch. f. Tierenährung U. Tierzuch.* 9: 722-749, 1933.
- STEINER, J.; J. CARRUTHERS. Studies on the fine structure of the biliary tree. The morphology of normal bile canaliculi, bile preductule and bile ductule. *Am J. Pathol.* 38: 639-642, 1961.
- WALSH, J. Gastrointestinal hormones and peptides. In: *Physiology of the gastrointestinal tract*, Edited by L.R. Johnson, Raven Press, New York. 60-144, 1981.
- WHEELER, H.O. Water and electrolytes in bile. In: *Handbook of physiology.* Am. Physiol. Soc. Washington, D.C. 6: 2409-2431, 1968.
- WHEELER, H.O.; E. ROSS, S. BRADLEY. Canicular bile production in dogs. *Am. J. Physiol.* 214: 866-874, 1968.
- YAU, W.; G. MAKHLOUF, L. EDWARDS. Mode of action of cholecystokinin and related peptides on gallbladder muscle. *Gastroenterology.* 65: 451-456, 1973.

Recibido en septiembre de 1988, aprobado en diciembre de 1988.