

Interacción hormonal endoexocrina pancreática: modelo *in vivo* sin filtro hepático en la rata

R.L. Ferrer, J. Medrano, R. Calpena, M. Diego, M. Moltó, M.L. Graells, M.T. Pérez, P. Cansado, I. Oliver, F. Pérez y A. Arroyo
Departamento de Patología y Cirugía. Facultad de Medicina. Universidad Miguel Hernández. Elche. Alicante.

Resumen

Introducción. Dada la controversia aún existente, se ha desarrollado un modelo experimental para determinar en el páncreas el papel de la insulina y el glucagón sobre su función exocrina, y el papel de la colecistocinina y la secretina sobre su función endocrina.

Material y métodos. El modelo se ha aplicado a un total de 60 ratas anestesiadas y estimuladas con dosis fisiológicas y suprafisiológicas de dichas hormonas administradas mediante perfusión continua. Se han medido en el jugo pancreático el volumen y las actividades y producciones enzimáticas de amilasa, lipasa y tripsina a los 0, 20, 40 y 60 min del inicio de las perfusiones. En el plasma se han determinado los valores de insulina, glucagón y glucosa a los 0, 10, 30 y 60 min.

Resultados. A dosis tanto fisiológicas como suprafisiológicas, la insulina y el glucagón modifican la secreción pancreática exocrina, y la colecistocinina altera la secreción pancreática endocrina. La secretina incrementa la secreción endocrina sólo a dosis suprafisiológicas.

Conclusiones. En condiciones basales *in vivo* y con dosis de estimulación hormonal de rango fisiológico, existe una interacción hormonal endoexocrina en la glándula pancreática.

Palabras clave: Insulina. Glucagón. Colecistocinina. Secretina. Interacción endoexocrina pancreática.

(Cir Esp 2001; 69: 436-444)

HORMONAL INTERACTION BETWEEN THE ENDOCRINE AND THE EXOCRINE PANCREAS: *IN VIVO* MODEL WITHOUT HEPATIC FILTER IN THE RAT

Introduction. In view of the continuing controversy regarding the interaction between the endocrine and the exocrine pancreas, we developed an experimental model to determine the role of insulin and glucagon on exocrine function, as well as to determine the role of cholecystokinin and secretin on endocrine function.

Material and methods. We applied the model to 60 anesthetized rats, stimulated with continuous infusion of physiological and supraphysiological doses of the above-mentioned hormones. The volume and activity of amylase, lipase and trypsin in pancreatic juice were measured at 0, 20, 40 and 60 minutes after starting the infusion. Plasma levels of insulin, glucagon and glucose levels were measured at 0, 10, 30 and 60 minutes.

Results. Insulin and glucagon modify exocrine secretion of the pancreas at physiological and supraphysiological doses. Cholecystokinin alters endocrine secretion of the pancreas at both physiological and supraphysiological doses, whereas secretin increases endocrine secretion only at supraphysiological doses.

Conclusion. Hormonal interaction between the endocrine and the exocrine pancreas was found *in vivo* under basal conditions with hormonal stimulation using physiological doses.

Key words: Insulin. Glucagon. Cholecystokinin. Secretin. Endo-exocrine interaction. Pancreas.

Introducción

Existen multitud de evidencias morfológicas y funcionales que correlacionan íntimamente las porciones endocrina y exocrina de la glándula pancreática, las cuales constituyen el llamado "eje insuloacinar"¹, siendo el sustrato anatómico de dicho eje el denominado "sistema portal insuloacinar"². En el contexto de este eje, las hormonas secretadas al torrente sanguíneo desde los islotes de Langerhans podrían ejercer un efecto

to en los ácinos pancreáticos, influyendo de esta forma sobre su secreción exocrina³.

Por otra parte, existen varios péptidos intestinales que actúan regulando la secreción exocrina del páncreas, siendo los principales estimulantes de esta secreción la colecistocinina (CCK)^{4,5} y la secretina^{5,6}. La mucosa del intestino delgado representa el lugar fundamental de producción de ambas hormonas^{7,8}. La CCK y la secretina, a su vez, podrían modular la secreción pancreática endocrina en el contexto del denominado eje enteroinsular^{9,10}.

En la actualidad, sigue siendo controvertido, por una parte, el efecto que las hormonas pancreáticas insulina y glucagón tienen sobre la secreción exocrina del páncreas y, por otra, la influencia que las hormonas intestinales CCK y secretina ejercen sobre la secreción pancreática de insulina y glucagón. Además, no está claro si los efectos descritos son debidos a dosis

Correspondencia: Dr. R.L. Ferrer.
Avda. Costablanca, 66. Urbanización Monte Blanco, 28. 03540 Alicante.

Aceptado para su publicación en noviembre del 2000.

hormonales farmacológicas o suprafisiológicas y, por tanto, sin importancia desde un punto de vista fisiológico. El análisis conjunto de estos efectos supondría el estudio simultáneo de dos amplios ejes, el eje insuloacinar y el eje enteroinsular, lo cual a su vez representaría finalmente un estudio sobre la interacción hormonal endoexocrina en la glándula pancreática.

Por otro lado, considerando la baja vida media plasmática de las hormonas pancreáticas endocrinas mencionadas –de 6 min para la insulina¹¹ y de 3 a 6 min para el glucagón¹²–, y dado el relevante papel del hígado en el metabolismo de ambas hormonas¹³, sería interesante realizar las determinaciones plasmáticas de estas hormonas en la vena porta, para así evitar las potenciales interferencias del filtro hepático.

Por todo ello, con el objetivo de determinar conjuntamente el efecto que la insulina y el glucagón ejercen sobre la secreción del páncreas exocrino y la influencia que la CCK y la secretina poseen sobre la secreción pancreática de insulina y glucagón, se propone un estudio mediante un modelo experimental *in vivo* en la rata anestesiada y en condiciones basales, con estimulación hormonal exógena intravenosa en perfusión continua, utilizando un rango de dosis de estimulación que varía desde dosis fisiológicas a dosis suprafisiológicas, con determinaciones plasmáticas portales (para obviar el filtro hepático) de insulina, glucagón y glucosa (como control de calidad de las perfusiones de insulina y glucagón, y para evaluar la fisiología de las dosis de insulina y glucagón administradas), y con estudio sistemático de la función pancreática exocrina (para valorar la fisiología de las dosis de CCK y secretina administradas).

Material y métodos

Ratas Wistar (250-350 g) extraídas de forma aleatoria de una población adulta (de más de 12 semanas de edad), machos, holoxénicas y no consanguíneas, procedentes del animalario de la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández, en Elche, Alicante. Todas las ratas se mantuvieron a una temperatura ambiente de 20 °C, con un ciclo luz-oscuridad de 12 h y en ayunas 8 h antes del inicio del experimento, excepto la ingestión de agua *ad libitum*.

La insulina (porcina cristalina, con un contenido aproximado en cinc del 0,5% y con una equivalencia aproximada de 24 U/mg), el glucagón (de una mezcla de páncreas porcino y bovino y con una pureza mínima del 95%) y la CCK (CCK-8, sintética y con una pureza mínima del 97%) procedían de Sigma Chemical, St. Louis, EE.UU. La secretina, de origen porcino y altamente purificada, fue proporcionada por Ferring, Malmö, Suecia. Los equipos de determinación de insulina y glucagón eran de Diagnostic Products Corporation, Los Ángeles, EE.UU.

Diseño experimental

Se utilizaron 60 ratas repartidas en 12 grupos de cinco, administrando a cada uno de los grupos insulina, glucagón, CCK o secretina con cada una de las diferentes dosis –submáxima, máxima y supramáxima (tabla 1)–, considerando las dosis submáxima y máxima como fisiológicas y la dosis supramáxima como suprafisiológica o farmacológica¹⁴⁻¹⁸. Las hormonas se perfundieron durante 60 min de forma continua en una solución de suero fisiológico a un ritmo de 6 ml/h. Además, se dispuso de un grupo control de 5 ratas en el que se administró sólo solución salina al mismo ritmo de perfusión.

En todos los grupos, incluido el control, se recogió en una micropipeta el volumen de jugo pancreático secretado (durante pe-

TABLA 1. Dosis submáxima, máxima y supramáxima de colecistocinina, secretina, insulina y glucagón

Hormonas	Unidades	Dosis		
		Submáxima	Máxima	Supramáxima
Colecistocinina	pmol/kg × min	1	10	100
Secretina	pmol/kg × min	1	10	100
Insulina	nmol/kg × min	0,50	5	50
Glucagón	nmol/kg × min	0,05	0,50	5
Colecistocinina	ng/kg × min	1,14	11,43	114,33
Secretina	ng/kg × min	3,05	30,55	305,55
Insulina	µg/kg × min	2,88	28,89	288,90
Glucagón	µg/kg × min	0,17	1,74	17,41

ríodos de 20 min) a los 0 (valor basal), 20, 40 y 60 min. En dicho jugo se determinaron las actividades enzimáticas de la amilasa, la lipasa y la tripsina, así como las producciones enzimáticas correspondientes. Asimismo, se practicaron extracciones sanguíneas portales de 0,8 ml a los 0 (valor basal), 10, 30 y 60 min del inicio de la perfusión, en cuyo plasma se determinaron las concentraciones de insulina, glucagón pancreático y glucosa.

Método quirúrgico

Previo anestesia con ketamina (116 mg/kg) y diazepam (3 mg/kg) por vía intraperitoneal y tras laparotomía xifumbilical, se cateterizaron con catéteres de polietileno de 20 G el conducto hepático común proximalmente al páncreas (para derivar la bilis) y el conducto común biliopancreático yuxtaduodenal distalmente (para la obtención del jugo pancreático), así como la vena porta mediante un dispositivo de diseño propio constituido por un catéter de polietileno de 20 G adaptado a la aguja terminal de un equipo de venoclisis tipo “palomilla” (de calibre 25) (para extracciones sanguíneas portales sin obstrucción del retorno venoso). Por último, previa cervicotomía transversa, se cateterizó con catéter de polietileno de 16 G la vena yugular derecha (para la perfusión hormonal intravenosa).

Mediciones y determinaciones bioquímicas

En el jugo pancreático, en la técnica de determinación de la actividad de amilasa se utilizó como sustrato el 4,6-etilideno-(G₇)-P-nitrofenil-(G₁)-α₁D-maltoheptaósido (etilideno-G₇-PNP). La actividad de lipasa se determinó mediante un test turbidométrico. La actividad de tripsina se realizó mediante el método de Folsch¹⁹, que utiliza como sustrato el Nα-P-toluensulfonil-L-arginina-metil-éster.

En el plasma, la insulina se determinó mediante radioinmunoanálisis competitivo para la medición de insulina humana, pero con un anticuerpo con un 100% de reacción cruzada con la insulina de rata. La determinación del glucagón pancreático se realizó mediante radioinmunoanálisis competitivo y secuencial para la medición de glucagón humano, con una reacción cruzada del 100% para el glucagón de rata. La glucosa se determinó mediante glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa y hexocinasa.

Análisis estadístico

Los datos de este trabajo se expresan como medias ± error estándar de la media (EEM). El método estadístico empleado ha sido el de análisis de la variancia (ANOVA) con medidas repetidas con un factor (*one-way ANOVA*)²⁰, donde la significa-

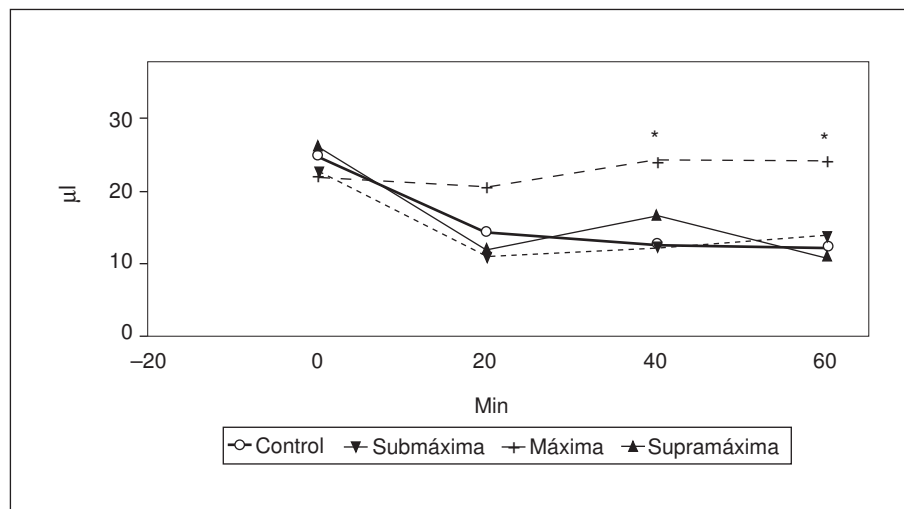


Fig. 1. Evolución en el tiempo del volumen de jugo pancreático secretado durante la administración de insulina. Control: grupo de perfusión con solución salina ($n = 5$); submáxima: grupo de perfusión con dosis submáxima de insulina ($n = 5$); máxima: grupo de perfusión con dosis máxima de insulina ($n = 5$); supramáxima: grupo de perfusión con dosis supramáxima de insulina ($n = 5$); * $p < 0,05$.

ción estadística ($p < 0,05$) se obtiene a partir del test de la F de Snedecor, siempre con respecto al grupo control.

Resultados

Efecto de la perfusión de insulina sobre la secreción pancreática exocrina

A dosis máxima, la insulina incrementa de forma significativa los volúmenes de jugo pancreático secretados a los 40 y 60 min, careciendo de efecto significativo sobre esta medición para las otras dos dosis (fig. 1).

La insulina produce una disminución significativa de las actividades de amilasa y lipasa en el jugo pancreático a todas las dosis y en todos los tiempos, excepto a los 40 min en la actividad de amilasa para la dosis máxima. A dosis submáxima, la insulina provoca un descenso de la actividad de tripsina del jugo pancreático de forma significativa a los 40 y 60 min, y a dosis máxima produce un descenso significativo de dicha actividad a los 60 min, sin constatare ningún efecto significativo para la dosis supramáxima (fig. 2).

Ninguna de las dosis de insulina tiene un efecto significativo sobre las producciones enzimáticas.

Efecto de la perfusión de insulina sobre las concentraciones plasmáticas portales de insulina, glucagón pancreático y glucosa

La insulina aumenta de modo significativo la concentración plasmática de esta hormona a todas las dosis y en todos los tiempos. También incrementa significativamente la concentración plasmática de glucagón pancreático a los 30 min para las dosis submáxima y supramáxima, y a los 60 min para todas las dosis. Por otro lado, provoca una disminución significativa de los valores plasmáticos de glucosa a todas las dosis, pero sólo a los 30 y 60 min.

Efecto de la perfusión de glucagón sobre la secreción pancreática exocrina

Cualquiera de las dosis de glucagón carece de efecto significativo sobre los volúmenes de jugo pancreático y sobre las producciones enzimáticas.

El glucagón da lugar a una disminución significativa de la actividad de amilasa en el jugo pancreático a los 20 y 40 min para la dosis submáxima y en todos los tiempos para la dosis supramáxima, sin efecto significativo para la dosis máxima. Asimismo, produce una disminución significativa de la actividad de lipasa en el jugo pancreático en todos los tiempos y con todas las dosis. De igual modo, provoca un descenso significativo de la actividad de tripsina en el jugo pancreático en todos los tiempos para la dosis supramáxima, pero sólo a los 60 min para las otras dos dosis (fig. 3).

Efecto de la perfusión de glucagón sobre las concentraciones plasmáticas portales de insulina, glucagón pancreático y glucosa

El glucagón produce un aumento significativo de la concentración de insulina en plasma a los 10 min para la dosis submáxima y a los 60 min para la dosis supramáxima, sin efecto significativo para la dosis máxima. También sube los valores plasmáticos del glucagón pancreático a todas las dosis y en todos los tiempos de modo significativo. Sin embargo, carece de efecto significativo sobre los valores plasmáticos de glucosa para todas las dosis.

Efecto de la perfusión de CCK sobre las concentraciones plasmáticas portales de insulina, glucagón pancreático y glucosa

La CCK aumenta de forma significativa los valores plasmáticos de insulina a los 10 y 30 min para la dosis supramáxima, y los de glucagón a los 30 min para la dosis máxima, sin efectos significativos para las otras dosis. No se observa ningún efecto significativo sobre la glucemia para cualquiera de las dosis de CCK perfundidas (fig. 4).

Efecto de la perfusión de CCK sobre la secreción pancreática exocrina

La CCK incrementa de forma significativa los volúmenes de jugo pancreático secretados en todos los tiempos, para las dosis máxima y supramáxima, sin ningún efecto significativo para la dosis submáxima.

La CCK aumenta de forma significativa todas las producciones enzimáticas a todas las dosis, salvo en el caso de la dosis submáxima, donde sólo se produce un incremento significativo en la producción de lipasa a los 40 min.

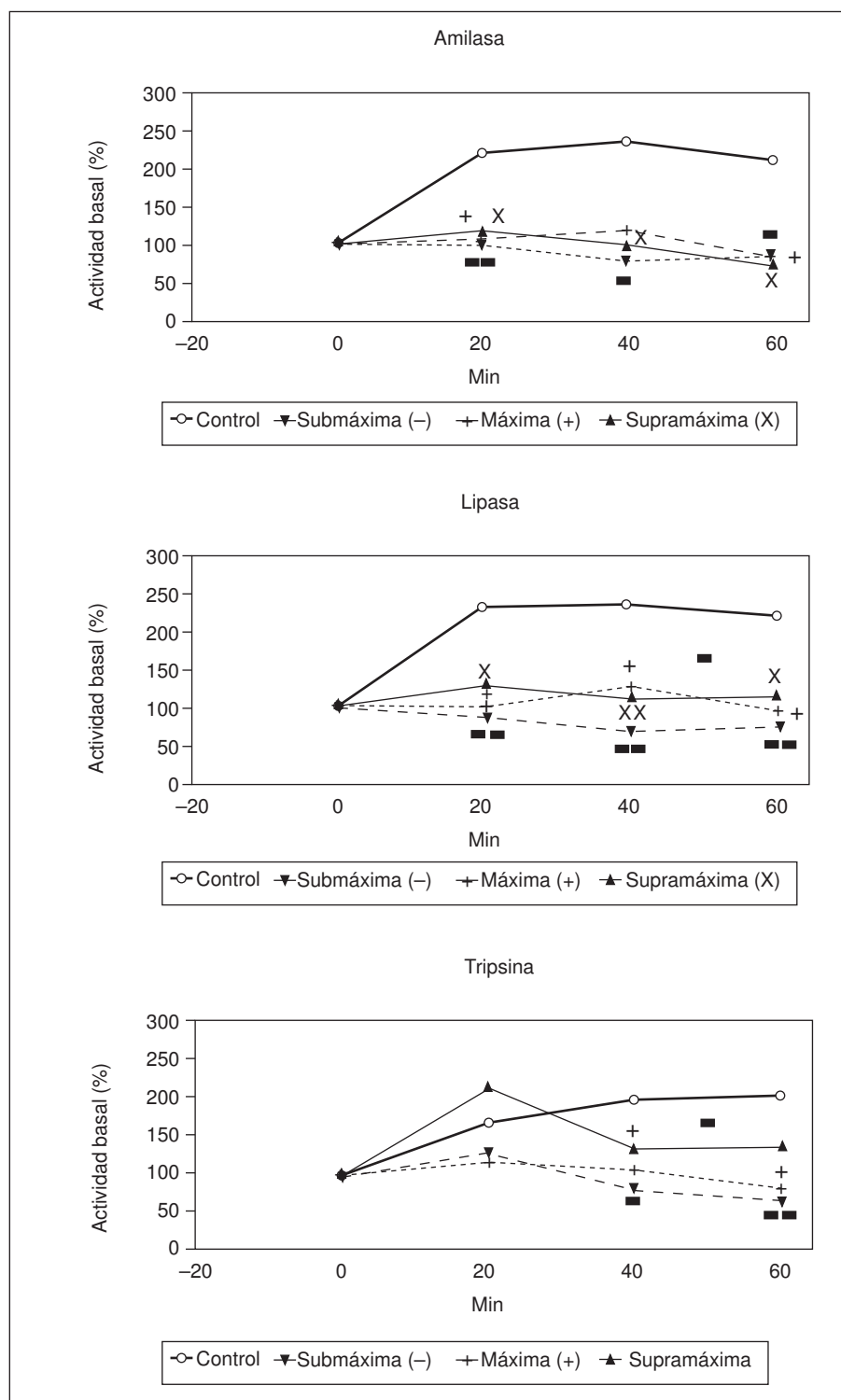


Fig. 2. Evolución en el tiempo de las actividades enzimáticas de amilasa, lipasa y tripsina del jugo pancreático secretado durante la administración de insulina. Los valores se expresan como porcentajes de la actividad enzimática basal (0 min), la cual se considera como 100. Control: grupo de perfusión con solución salina ($n = 5$); submáxima: grupo de perfusión con dosis submáxima de insulina ($n = 5$); máxima: grupo de perfusión con dosis máxima de insulina ($n = 5$); supramáxima: grupo de perfusión con dosis supramáxima de insulina ($n = 5$). —, +, x: $p < 0,05$. —, xx: $p < 0,01$.

Efecto de la perfusión de secretina sobre las concentraciones plasmáticas portales de insulina, glucagón pancreático y glucosa

La secretina incrementa de modo significativo los valores plasmáticos de glucagón a los 60 min para la dosis supramáxima, sin efectos significativos para las otras dosis. Sobre los niveles plasmáticos de insulina y glucosa, ninguna de las dosis perfundidas de secretina obtienen respuesta significativa (fig. 5).

Efecto de la perfusión de secretina sobre la secreción pancreática exocrina

La secretina, a dosis máxima y supramáxima, produce incrementos significativos de los volúmenes de jugo pancreático secretados en cada uno de los tiempos (excepto a los 60 min para la dosis máxima), no constatándose ningún efecto significativo en este sentido con la dosis submáxima.

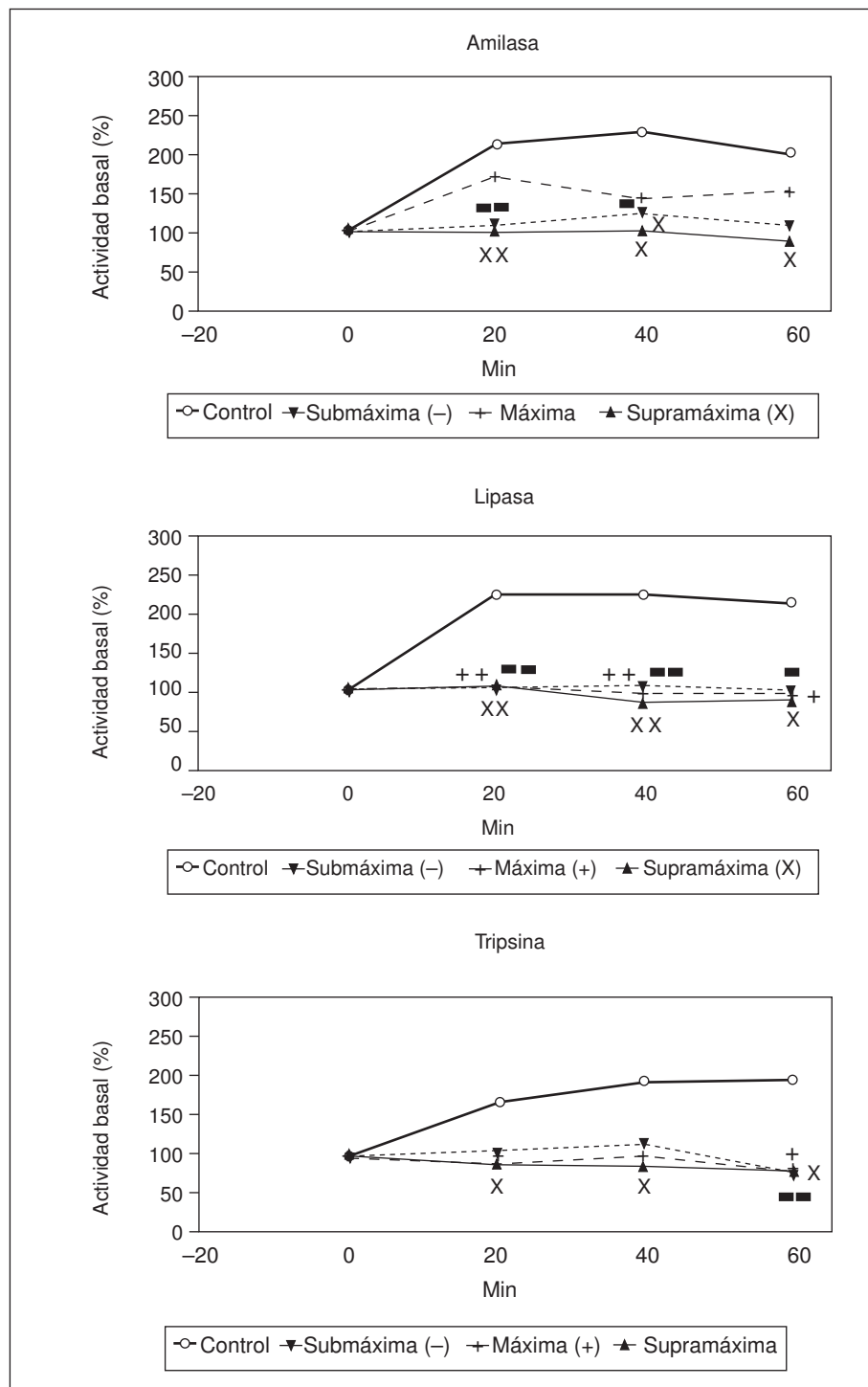


Fig. 3. Evolución en el tiempo de las actividades enzimáticas de amilasa, lipasa y tripsina del jugo pancreático secretado durante la administración de glucagón. Los valores se expresan como porcentajes de la actividad enzimática basal (0 min), la cual se considera como 100. Control: grupo de perfusión con solución salina ($n = 5$); submáxima: grupo de perfusión con dosis submáxima de glucagón ($n = 5$); máxima: grupo de perfusión con dosis máxima de glucagón ($n = 5$); supramáxima: grupo de perfusión con dosis supramáxima de glucagón ($n = 5$). \neg , +, x: $p < 0,05$; \neg , ++, xx: $p < 0,01$.

La secretina incrementa significativamente todas las producciones enzimáticas a todas las dosis, excepto con la dosis submáxima, donde sólo se consigue aumento significativo en la producción de tripsina a los 20 min.

Discusión

Según diferentes autores, *in vivo* la insulina exógena aumenta en ratas la secreción exocrina pancreática basal²¹⁻²³ o resta-

blece la disminución de dicha secreción observada en la diabetes aguda experimental en ratas²⁴ y en ovejas²⁵. Por el contrario, en otros trabajos la insulina carece de efecto sobre la secreción basal disminuida en conejos diabéticos²⁶.

Según los resultados de nuestro trabajo, la insulina a dosis máxima aumenta significativamente la secreción de jugo pancreático respecto al grupo control, pero sin efecto a dosis submáxima y supramáxima. Por tanto, este efecto de la insulina se considera fisiológico al producirse a dosis máxima, la cual, de

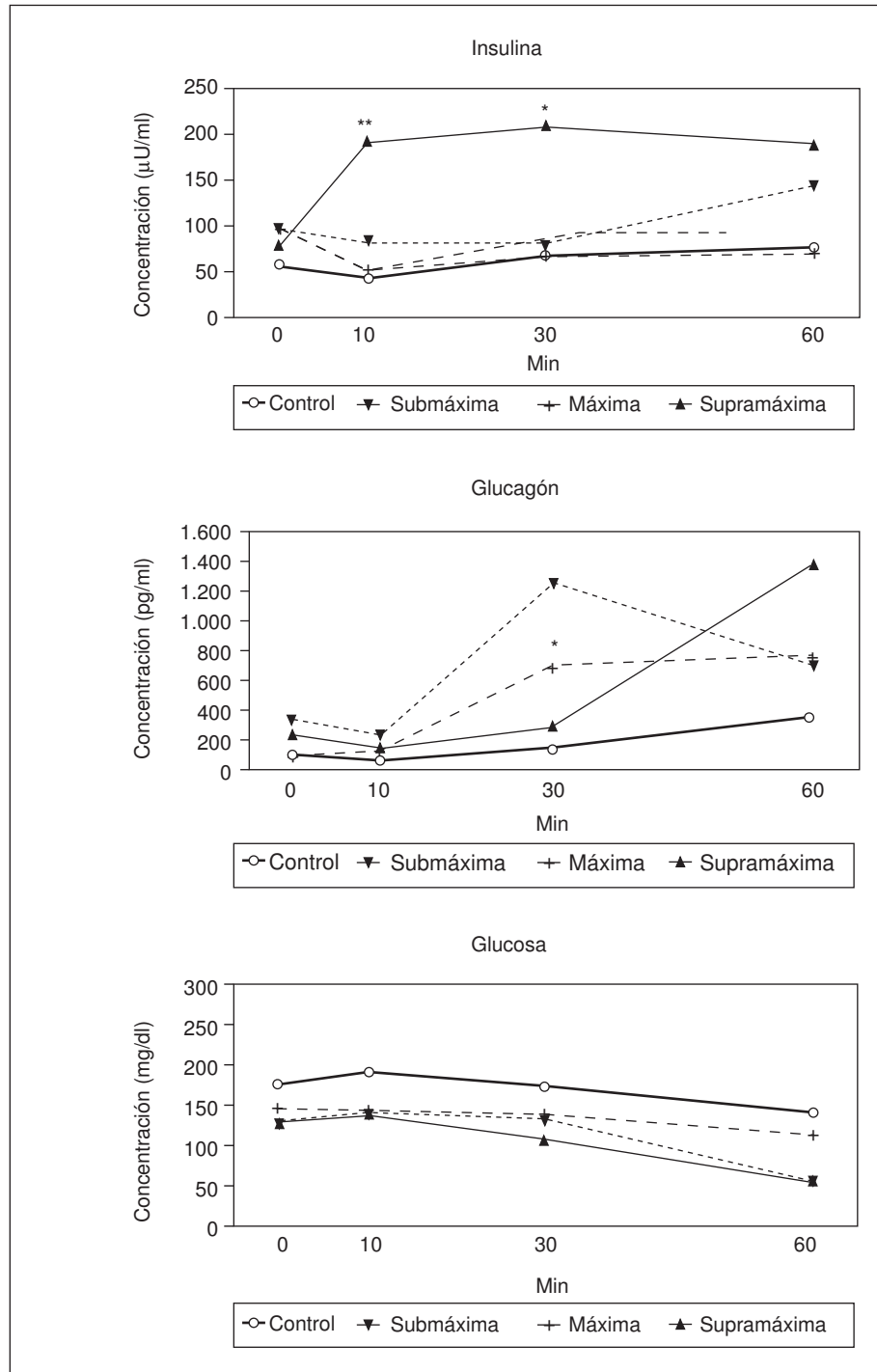


Fig. 4. Evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas portales de insulina, glucagón y glucosa durante la administración de colecistocinina. Control: grupo de perfusión con solución salina ($n = 5$); submáxima: grupo de perfusión con dosis submáxima de colecistocinina ($n = 5$); máxima: grupo de perfusión con dosis máxima de colecistocinina ($n = 5$); supramáxima: grupo de perfusión con dosis supramáxima de colecistocinina ($n = 5$); * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

todas las dosis administradas, es la que más disminuye la concentración plasmática de glucosa.

Respecto a las actividades enzimáticas de la amilasa, la lipasa y la tripsina del jugo pancreático, en nuestro estudio la insulina las disminuye de forma significativa en comparación con el grupo control a todas sus dosis, excepto para la de tripsina, donde la dosis supramáxima de insulina carece de efecto. Sin embargo, no existen efectos significativos sobre las respectivas producciones enzimáticas. El efecto de la insulina sobre las actividades enzimáticas no es dependiente de la dosis, pues las

mayores disminuciones se producen con la dosis submáxima, la menor de las administradas. Por otra parte, esta acción de la insulina se considera fisiológica, al producirse a dosis submáxima y máxima.

Nuestros resultados con la insulina son parcialmente superponibles a los de otros trabajos realizados en condiciones basales en ratas²¹⁻²³, pero con dosis más altas de insulina administradas mediante inyección en bolo intravenoso o subcutáneo, y no en perfusión continua como en nuestro trabajo. En algunos de estos estudios, la insulina exógena produce también incrementos

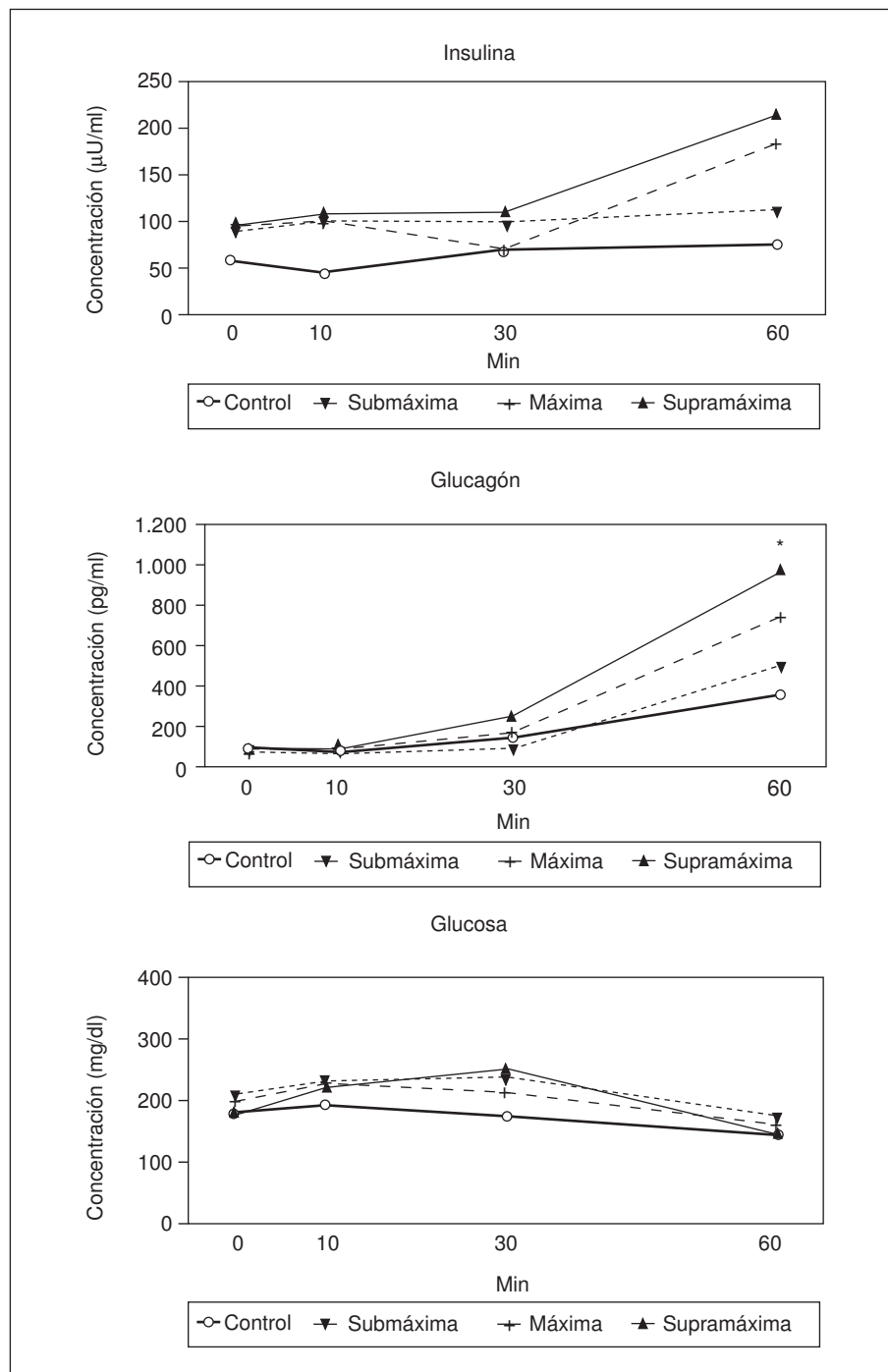


Fig. 5. Evolución en el tiempo de las concentraciones plasmáticas portales de insulina, glucagón y glucosa durante la administración de secretina. Control: grupo de perfusión con solución salina ($n = 5$); submáxima: grupo de perfusión con dosis submáxima de secretina ($n = 5$); máxima: grupo de perfusión con dosis máxima de secretina ($n = 5$); supramáxima: grupo de perfusión con dosis supramáxima de secretina ($n = 5$); * $p < 0,05$.

en la secreción basal de jugo pancreático^{21,23}, sin afectar a las producciones basales de amilasa²², lipasa²³ y tripsina²¹. Sin embargo, sí que se observa un aumento de la producción basal de amilasa en algunos de estos trabajos^{21,23}, que contrasta con la falta de aumento de dicha producción de nuestro estudio, y que podría atribuirse a las altas dosis de insulina administradas en forma de bolo. Por otra parte, ninguno de estos trabajos analiza las actividades enzimáticas del jugo pancreático, por lo que no se puede realizar un análisis comparativo de este aspecto.

Por otro lado, se han publicado diferentes resultados del efecto de la administración de glucagón sobre la secreción pancreá-

tica exocrina, dependiendo de las especies y de las condiciones experimentales. Así, el glucagón inhibe la secreción pancreática exocrina *in vivo* en condiciones basales en ratas²⁷. Sin embargo, según otros autores, el glucagón no ejerce efecto sobre dicha secreción en condiciones basales en ratas²⁸, conejos²⁹, perros³⁰ y humanos³¹.

Según los resultados de nuestro estudio, el glucagón disminuye de forma significativa las actividades enzimáticas de amilasa, lipasa y tripsina del jugo pancreático en comparación con el grupo control a todas las dosis, excepto para la dosis máxima sobre la actividad de amilasa. Sin embargo, el glucagón no

ejerce ningún efecto sobre el volumen de secreción de jugo pancreático ni sobre las correspondientes producciones enzimáticas. El efecto inhibitor del glucagón sobre todas las actividades enzimáticas es mayor con la dosis supramáxima (dosis que también provoca los mayores incrementos de la insulínemia), y este efecto es dependiente de la dosis para la lipasa y tripsina, pero no para la amilasa, puesto que la dosis submáxima de glucagón disminuye más la actividad de amilasa que la dosis máxima. Esta acción del glucagón sobre las actividades enzimáticas del jugo pancreático se considera fisiológica, al producirse a dosis submáxima y máxima.

Sin embargo, en nuestro trabajo, la administración de glucagón no provoca el descenso de la secreción basal de jugo pancreático constatado en ratas por otros autores²⁷, lo cual puede atribuirse a las altas dosis de glucagón administradas en forma de bolo intravenoso de este último trabajo, que no estudia las concentraciones enzimáticas del jugo pancreático, por lo que no se puede analizar comparativamente este aspecto.

Por otra parte, el efecto de la CCK exógena sobre la secreción de insulina *in vivo* es, según múltiples estudios, de estimulador de dicha secreción en condiciones basales en ratas^{15,32}, ovejas^{33,34} y humanos³⁵. Sin embargo, este efecto estimulador de la CCK no está claro y es motivo de controversia, pues otros trabajos en condiciones basales no lo han demostrado en ratas³⁶.

La CCK-8, en nuestro trabajo, solamente aumenta la concentración plasmática basal de insulina *in vivo* para la dosis supramáxima a los 10 y 30 min de iniciarse su perfusión continua, resultado superponible a los de otros trabajos realizados en ratas con CCK administrada en perfusión continua^{15,32}. Pero este efecto sólo se da con la dosis supramáxima de CCK-8, dosis no fisiológica y superior a la dosis máxima, la cual es la que provoca la mayor respuesta de la secreción pancreática exocrina.

Con respecto al efecto de la CCK sobre la liberación de glucagón, según diversos estudios, la administración de CCK estimula dicha liberación *in vivo* en condiciones basales en el ratón³⁷ y en la rata³⁸. Sin embargo, otros trabajos en condiciones basales no han confirmado este efecto estimulador en ovejas³⁴ ni en humanos³⁵.

Según nuestros hallazgos, la CCK-8 sólo aumenta de forma significativa en condiciones basales *in vivo* los valores plasmáticos de glucagón a dosis máxima y a los 30 min del inicio de la perfusión. Así, el efecto de la CCK-8 sobre la liberación de glucagón se considera fisiológico, pues se produce a dosis máxima, dosis que, por otra parte, representa la dosis que más estimula la secreción pancreática exocrina. Estos resultados coinciden con otros trabajos en condiciones basales *in vivo* en ratas³⁸, aunque estos autores, a diferencia de nuestro estudio, utilizan dosis suprafisiológicas de CCK-8 administradas en forma de bolo intravenoso.

Hay que reseñar que en la bibliografía revisada sólo se han hallado dos estudios, uno con ceruleína en ratas¹⁴ y otro con CCK-8 en ovejas³⁴, donde se analizan a la vez los efectos de las diferentes dosis administradas sobre la liberación de insulina y glucagón y sobre la secreción pancreática exocrina *in vivo*, para así evaluar la relevancia fisiológica de las dosis administradas.

Igualmente, tan sólo se ha encontrado un estudio con ceruleína en ratas, donde las determinaciones plasmáticas de insulina y glucagón se hacen en la vena porta¹⁴, realizándose en el resto de casos en territorio extraportal, preferentemente en la yugular.

En cuanto al efecto de la secretina sobre la secreción de insulina, en la bibliografía consultada la secretina exógena produce *in vivo* aumentos de los valores plasmáticos de insulina en

condiciones basales en ratones³⁹ y humanos^{40,41}, aunque no se ha confirmado que sea una acción fisiológica por las altas dosis de secretina en forma de bolo intravenoso administradas en estos estudios. Así, la administración de secretina no aumenta en ratas la secreción de insulina basal¹⁵. Estos efectos distintos pueden atribuirse a diferencias de especie.

En nuestro estudio, no se ha constatado *in vivo* ninguna influencia significativa de la secretina sobre los valores plasmáticos de insulina en cualquiera de las dosis de secretina perfundidas en condiciones basales, resultados superponibles a los ya obtenidos anteriormente en ratas, con las mismas dosis de secretina en perfusión continua¹⁵.

Por último, la bibliografía existente acerca del efecto de la secretina sobre la liberación de glucagón pancreático es muy escasa. Así, se ha publicado que este péptido intestinal no afecta *in vivo* la liberación basal de glucagón en ratones⁴², ratas¹⁵ o en humanos⁴⁰.

Según nuestros resultados, la secretina aumenta de forma significativa la concentración plasmática de glucagón pancreático *in vivo* solamente a dosis supramáxima y a los 60 min del inicio de la perfusión. Este incremento no es fisiológico, puesto que se produce a dosis supramáxima.

Finalmente, y a la vista de nuestros resultados, la administración de insulina y glucagón a dosis fisiológicas produce un incremento del volumen de jugo pancreático secretado (sólo la insulina) y un descenso de las actividades enzimáticas de la amilasa, la lipasa y la tripsina en el jugo pancreático (ambas hormonas). Por otra parte, la administración de CCK a dosis fisiológicas produce un incremento de los valores plasmáticos de glucagón sin efecto sobre los valores de insulina, mientras que la administración de secretina a dosis fisiológicas carece de efecto sobre las concentraciones plasmáticas de insulina y glucagón. Por todo ello, consideramos que, a dosis fisiológicas y en condiciones basales *in vivo*, la insulina y el glucagón, por un lado, actúan sobre la función pancreática exocrina, y por otro lado la CCK actúa sobre la función pancreática endocrina, por lo que finalmente se puede concluir que en el seno del páncreas de la rata anestesiada, en situación basal y con dosis hormonales de estimulación de rango fisiológico, existe una interacción hormonal endoexocrina.

Agradecimiento

A D.A.J. Ferrer Riquelme por el análisis estadístico de los datos. Este trabajo se ha realizado gracias a la financiación del Fondo de Investigaciones de la Seguridad Social (FIS) (n.º de expediente: 92/0333) y a la Beca para subvención de proyectos de investigación conducentes a Tesis Doctoral de Ibero (años 1992-1994).

Bibliografía

1. Schonfeld JV, Muller MK. The insulo-acinar axis of the pancreas. *Med Klin* 1993; 88: 724-728.
2. Murakami T, Fujita T, Miyake T, Ohtsuka A, Taguchi T, Kikuta A. The insulo-acinar portal and insulo-venous drainage systems in the pancreas of the mouse, dog, monkey and certain other animals: a scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Arch Histol Cytol* 1993; 56: 127-147.
3. Bendayan M, Gregoire S. Immunohisto- and cytochemical studies of pancreatic enzymes in peri-insular and tele-insular acinar cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Pancreas* 1987; 2: 272-282.

4. Harper AA, Raper HS. Pancreozymin, a stimulant of secretion of pancreatic enzymes, in extracts of the small intestine. *J Physiol* 1943; 102: 115-125.
5. Calpena R, Medrano J, Pardo JM, Pérez MT, Carbonell MA, Candel F et al. Interacción entre la secretina y CCK en la estimulación de la función exocrina pancreática en el perro. *Cir Esp* 1987; 42: 830-838.
6. Konturek SJ. Pancreatic dose-response curves to intravenous secretin in man. *Gastroenterology* 1970; 58: 828-832.
7. Polak JM, Coulling I, Bloom SR, Pearse AG. Immunofluorescent localization of secretin and enteroglucagon in human intestinal mucosa. *Scand J Gastroenterol* 1971; 6: 739-744.
8. Dubois MP, Paulin C, Chayvialle JA. Identification of gastrin-secreting cells and cholecystokinin-secreting cells in the gastrointestinal tract of the humans fetus and adult man. *Cell Tissue Res* 1976; 175: 351-356.
9. Unger RH, Eisentraut AM. Entero-insular axis. *Arch Intern Med* 1969; 123: 261-266.
10. Pérez F, Puigdollers A, Castell E, Armengol M, Oller B, Otero JC et al. Estudio celular endocrino en duodeno y páncreas tras la práctica de una gastrectomía parcial en la rata. *Cir Esp* 1998; 63: 87-92.
11. Fernig DG, Mayer RJ. Insulin processing in primary endosomes is not responsible for insulin resistance observed in parametrial adipocytes from lactating rats. *Biochim Biophys Acta* 1989; 1010: 237-245.
12. Kahn CR, Shechter Y. Insulina, agentes hipoglucemiantes orales y farmacología del páncreas endocrino. En: Goodman A, Goodman LS, Rall TW, Murad F, editores. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1991; 1415-1445.
13. Rojdmarch S, Bloom G, Chou MCY, Field JB. Hepatic extraction of exogenous insulin and glucagon in the dog. *Endocrinology* 1978; 102: 806-813.
14. Otsuki M, Sakamoto C, Maeda M, Yuu H, Morita S, Baba S. Effect of caerulein on exocrine and endocrine pancreas in the rat. *Endocrinology* 1979; 105: 1396-1399.
15. Szczówka J, Lins PE, Efendic S. Effects of cholecystokinin, gastric inhibitory polypeptide and secretin on insulin and glucagon secretion in rats. *Endocrinology* 1982; 110: 1268-1272.
16. Harada H, Kochi F, Hanafusa E, Kobayashi T, Oka H, Kimura I. Studies on the effect of glucagon on human pancreatic secretion by analysis of endoscopically obtained pure pancreatic juice. *Gastroenterol Jpn* 1985; 20: 28-36.
17. Cucchiari G, Branum GD, Farouk M, Mansour G, Kuhn CM, Anthony DC et al. The effects of liver denervation on the regulation of hepatic biliary secretion. *Transplantation* 1992; 54: 129-136.
18. Hasegawa H, Okabayashi Y, Koide M, Kido Y, Okutani T, Matsushita K et al. Effect of islet hormones on secretin-stimulated exocrine secretion in isolated perfused rat pancreas. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 1278-1283.
19. Folsch UR, Wormsley KG. Pancreatic enzyme response to secretin and cholecystokinin pancreozymin in the rat. *J Physiol* 1973; 324: 79-94.
20. Elashoff JD. Analysis of repeated measures designs. *BMDP Technical Report* 1986; 83.
21. Sofranková A. Effect of exogenous and endogenous insulin on the secretory response of the pancreas to the octapeptide of cholecystokinin (CCK-8) in normal rats. *Physiol Bohemoslov* 1984; 33: 391-398.
22. Berg T, Johansen L, Brekke IB. Insulin potentiates cholecystokinin (CCK)-induced secretion of pancreatic kallikrein. *Acta Physiol Scand* 1985; 123: 89-95.
23. Duan RD, Wicker C, Erlanson-Albertsson C. Effect of insulin administration on contents, secretion and synthesis of pancreatic lipase and colipase in rats. *Pancreas* 1991; 6: 595-602.
24. Ohara H. Clinical and experimental studies on the entero-insular and insulo-acinar correlations. En: Fujita T, editor. *Endocrine gut and pancreas*. Amsterdam: Elsevier, 1976; 321-333.
25. Pierzynowski SG, Podgurniak P, Mikolajczyk M, Szczesny W. Insulin and the parasympathetic dependence of pancreatic juice secretion in healthy and alloxan diabetic sheep. *Q J Exp Physiol* 1986; 71: 401-407.
26. Álvarez C, López MA. Effect of alloxan diabetes on exocrine pancreatic secretion in the anesthetized rabbit. *Int J Pancreatol* 1989; 5: 229-238.
27. Biedzinski TM, Bataille D, Devaux MA, Sarles H. The effect of oxyntomodulin (glucagon-37) and glucagon on exocrine pancreatic secretion in the conscious rat. *Peptides* 1987; 8: 967-972.
28. Adler G. Effect of glucagon on the secretory process in the rat exocrine pancreas. *Cell Tissue Res* 1977; 182: 193-204.
29. Jarret L. Effect of glucagon on the acinar portion of the pancreas. *Endocrinology* 1962; 70: 867-871.
30. Papp M, Feher S, Varga B, Folly G. Humoral influences on local blood flow and external secretion of the resting dog pancreas. *Acta Med Acad Sci Hung* 1977; 34: 185-198.
31. Wettergren A, Schjoldager B, Mortensen PE, Myhre J, Christiansen J, Holst JJ. Truncated GLP-1 (proglucagon 78-107-amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 665-673.
32. Balkan A, Stefens AB, Strubbe JH, Bruggink JE. Biphasic insulin secretion after intravenous but not after intraportal CCK-8 infusion in rats. *Diabetes* 1990; 39: 702-706.
33. Mineo H, Iwaki N, Onaga T, Kato S. Effects of intravenous infusions of cholecystokinin-8 and pentagastrin on plasma concentrations of insulin and glucagon in sheep. *Res Vet Sci* 1994; 56: 298-302.
34. Mineo H, Iwaki N, Kogishi K, Zabielski R, Onaga T, Kato S. Effects of intravenous infusions of cholecystokinin (CCK) -8 on exocrine and endocrine pancreatic secretion in conscious sheep. *Comp Biochem Physiol* 1995; 111 (Supl A): 133-138.
35. Ahren B, Pettersson M, Uvnas-Moberg K, Gutniak M, Efendic S. Effects of cholecystokinin (CCK)-8, CCK-33 and gastric inhibitory polypeptide (GIP) on basal and meal-stimulated pancreatic hormone secretion in man. *Diabetes Res Clin Pract* 1991; 13: 153-162.
36. Otsuki M, Nakano S, Tachibana I. Treatment with cholecystokinin receptor antagonist loxiglumide enhances insulin response to intravenous glucose stimulation in postpancreatic rats. *Regul Pept* 1994; 52: 85-95.
37. Karlsson S, Ahren B. Effects of three different cholecystokinin receptor antagonists on basal and stimulated insulin and glucagon secretion in mice. *Acta Physiol Scand* 1989; 135: 271-278.
38. Verspohl EJ, Zoll C, Wahl MA, Ammon HPT. The role of cholecystokinin (CCK8) on glucose production and elimination, and on plasma insulin and glucose in rats. *Peptides* 1992; 13: 1091-1095.
39. Ahren B, Lundquist I. Effects of vasoactive intestinal polypeptide (VIP), secretin and gastrin on insulin secretion in the mouse. *Diabetologia* 1981; 20: 54-59.
40. Glaser B, Shapiro B, Glowinski J, Fajans SS, Vinik AI. Effect of secretin on the normal and pathological B-cell. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 1138-1143.
41. Imamura M, Hattori Y, Nishida O, Honda T, Shimada Y, Miyahara T et al. Unresponsiveness of insulinoma cells to secretin: significance of the secretin test in patients with insulinoma. *Pancreas* 1990; 5: 467-73.
42. Ahren B, Lundquist I. Secretin potentiates cholinergically induced glucagon secretion in the mouse. *Acta Physiol Scand* 1986; 128: 575-578.