

Instituto Español de Fisiología y
Bioquímica. — Barcelona

Observaciones al método de absorciones sucesivas de Sols y Ponz

por S. Vidal-Sivilla, A. Sols y F. Ponz

(Recibido para publicar el día 23 de agosto de 1950)

En la descripción original del método de Sols y Ponz para el estudio de la absorción intestinal «in situ», en pruebas sucesivas en la misma asa de un animal, se dejaban sobreentendidos algunos extremos que la experiencia aconseja precisar, en vista sobre todo a la notable influencia de la concentración en la cantidad de glucosa absorbida, según ha sido demostrado por uno de nosotros (5).

Las observaciones se refieren más especialmente a temperatura ambiente, presión de repleción del asa, volumen de solución a absorber que debe utilizarse en cada prueba, concentración efectiva en asa, tiempo de absorción y expresión de los resultados ; todo ello aplicado al caso particular de la absorción de glucosa.

Material y métodos

Hemos utilizado el método de absorciones sucesivas de Sols y Ponz, con el dispositivo que se describe para ratas (4) y con solución isotónica de glucosa (5,4 %). Las determinaciones de la glucosa residual se han hecho con el método de Sols (2), previa dilución oportuna.

Resultados

I. — TEMPERATURA AMBIENTE

Operando en animales anestesiados es preciso tener muy en cuenta la temperatura ambiente, por lo que los autores del método (Sols y Ponz, 1946) recomendaban se mantuviese a unos

30°C (3). Efectivamente, nuestra experiencia ulterior ha confirmado que por debajo de 28° los animales no son capaces de regular bien su temperatura y se enfrían. Por otra parte, puede llegarse hasta los 35° sin que se provoque hipertermia. El margen de temperatura ambiente utilizable es, pues, de 28 a 35° con condiciones óptimas a unos 30°.

Disponiendo calentadores en una vitrina suficientemente amplia no es necesario que toda la habitación de trabajo sea mantenida a dicha temperatura, aunque esto último sería lo más adecuado. Sin embargo, la diferencia de temperatura entre la vitrina y la habitación no debe ser grande, para evitar enfriamientos al manipular en los animales.

A pesar de estas precauciones, es frecuente que como consecuencia de la operación disminuya algo la temperatura del animal. Por esta y otras razones (shock operatorio) es muy aconsejable no comenzar las pruebas de absorción hasta que hayan transcurrido 20 ó 30 minutos después de la operación; en otro caso, la primera absorción podría dar valores más bajos que las siguientes.

2. — PRESIÓN DE REPLECIÓN

Se mide por el desnivel que hay entre el asa intestinal que está dentro del abdomen y la altura a que queda el líquido en la tubuladura de entrada cuando ya se ha cerrado la pinza de salida. Se regula mediante esta última, dejando salir más o menos líquido.

El nivel de la solución en el tubo de entrada y sus variaciones se pueden observar empleando tubo de vidrio entre el embudo y la cánula de entrada. A las oscilaciones rítmicas respiratorias bien identificables, se superponen a veces otras de amplitud y frecuencia variables que corresponden a la motilidad intestinal.

Puede observarse también la disminución o aumento de presión debido a la absorción o secreción de agua durante la experiencia; con soluciones isotónicas se absorbe algo de agua, lo que a veces implica un pequeño descenso de nivel. La tonicidad de las paredes del intestino y el reducido tiempo de absorción que se aconseja más adelante, hacen que tal descenso sea mínimo o incluso nulo.

Hemos operado con presiones de repleción de 5 y 12 cm. de agua; a las diferentes presiones corresponden distintos grados de distensión intestinal y con ello capacidades de asa asimismo distintas. El *volumen del asa*, medido inmediatamente después de verificar su repleción en un buen número de animales de 120

a 200 g. de peso, viene a ser de 1 c.c. por cada 10 cm. de longitud de asa si se trabaja con presión de 5 cm. de agua y aproximadamente el doble (2 c.c.) con presiones de 12 cm.

3. — VOLUMEN DE SOLUCIÓN A ABSORBER

Como indicaban Sols y Ponz (4), el volumen de solución problema ha de ser suficiente para arrastrar el líquido del lavado previo que ha quedado en el asa y, por tanto, ser algo mayor que la suma de volúmenes correspondientes a los tubos de entrada y salida más volumen del asa, que depende de la longitud de la misma, peso del animal y presión de repleción. Si se utilizan animales adultos, el factor peso puede despreciarse. Con el material empleado, la capacidad del tubo de salida era de 2 c.c. y el líquido que quedaba en el de entrada, cuando se trabaja con presión de 12 cm., también de unos 2 c.c., es decir, un total de unos 4 c.c. Con asas de 20 a 30 cm. de longitud, a esta presión de repleción, la capacidad del asa será, según vimos antes, de 4 a 6 c.c., lo que hace un volumen total de líquido en el conjunto de asa y tubuladura, de 8 a 10 c.c.; por ello se aconseja utilizar 10 c.c. de solución. Si la presión de repleción adoptada es de 5 cm. de agua, cálculos semejantes inducen a aconsejar unos 7,5 c.c. Cantidades menores de las señaladas llevarían a resultados incorrectos.

4. — CONCENTRACIÓN EFECTIVA EN ASA

La concentración de la glucosa en el líquido incluido en el asa resulta influida por la dilución que la solución introducida en el sistema haya sufrido por mezcla con el suero fisiológico del lavado que ocupaba ya el intestino y por la absorción de la sustancia durante la prueba, por la distinta velocidad de absorción (o secreción) de agua y por la posible difusión de glucosa desde la tubuladura de entrada a medida que se va estableciendo suficiente caída de concentración entre el líquido que rellena el asa y el que ocupa aquélla.

a) *Dilución por mezcla con el suero fisiológico residual.*

Al penetrar la solución a absorber en el sistema tubular en el asa, a la vez que arrastra al suero fisiológico que queda del lavado previo se mezcla algo con él, por lo que sufre dilución. El grado de ésta dependerá del volumen de solución a absorber que se introduce, de la longitud del asa y de la presión y velocidad de repleción. Al dejar que el líquido de lavado fluya libremente antes de introducir la solución, o su expulsión completa bajo presión desde la entrada (mediante una jeringa vacía,

por ejemplo), evitaría ciertamente tal dilución, pero al quedar aire en el sistema se formarían con suma facilidad burbujas dentro del asa al tratar de llenarla, lo que disminuiría la superficie útil absorbente y la capacidad práctica del asa ; esto supondría un error técnico difícilmente valorable.

La dilución que sufre la solución a absorber por la referida causa, se ha evaluado ligando el asa por sus dos extremos junto a las cánulas inmediatamente después de introducir aquélla, y, extraída del cuerpo, se procedía a determinar la concentración de la solución presente en el asa. En nuestras condiciones de trabajo, la pérdida de concentración es de sólo un 5 a un 10 % de la inicial. Como dichas condiciones son constantes en cada animal y en cada serie de experiencias, la influencia de tal dilución es despreciable, no restando valor comparativo alguno.

b) *Variación de la concentración de glucosa en el contenido del asa durante la absorción.*

A medida que se va absorbiendo la glucosa de una solución isotónica, disminuye su concentración por no reabsorberse una cantidad proporcional de agua. Ligando el asa como en el caso anterior, hemos determinado el volumen de solución y la cantidad de glucosa residual después de diferentes tiempos de absorción y hemos encontrado que con presión de repleción de 5 cm. al cabo de 10 minutos, la concentración era un 50 ó un 75 % de la inicial ; con presión de 12 cm. de agua se llega a parecidos valores al cabo de 15 minutos, dado que el asa contiene inicialmente doble volumen de solución de glucosa.

c) *Difusión de la glucosa desde la tubuladura de entrada hacia el asa.*

Para calcularla se ha determinado la concentración de la solución en el tubo de entrada y en el interior del asa después de un tiempo de absorción de 20 minutos. Las concentraciones respectivas fueron 4,6 % y 3,1 %, mientras que en tiempo 0 eran de 5,4 % y 5,2 %. Como se ve, aunque hay cierta difusión, es de un valor reducido y puede suponerse constante en los casos en que no haya muy grandes diferencias de absorción. Si las diferencias de absorción son grandes, la difusión será distinta, pero las diferencias en la misma serán despreciables en relación a las de absorción.

5. — TIEMPO DE ABSORCIÓN

a) *Velocidad de la absorción en función del tiempo de duración de cada prueba.*

Realizamos experiencias de absorción de 10 y 20 minutos

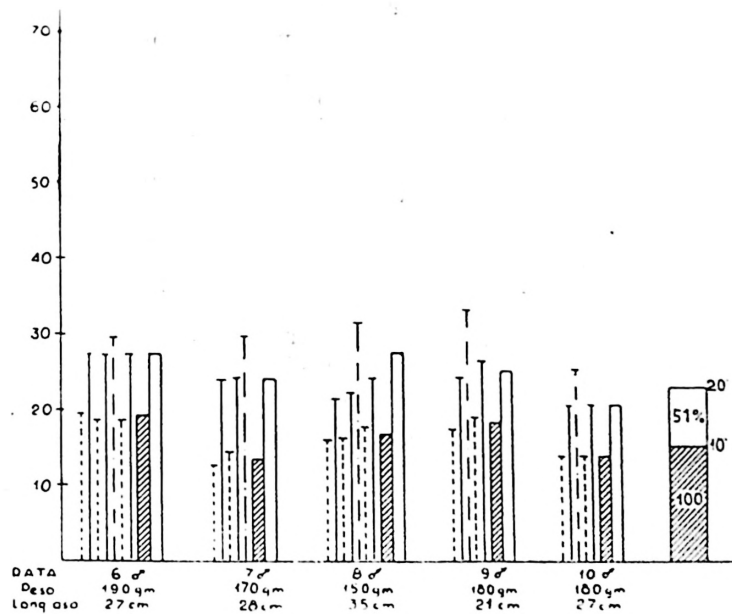
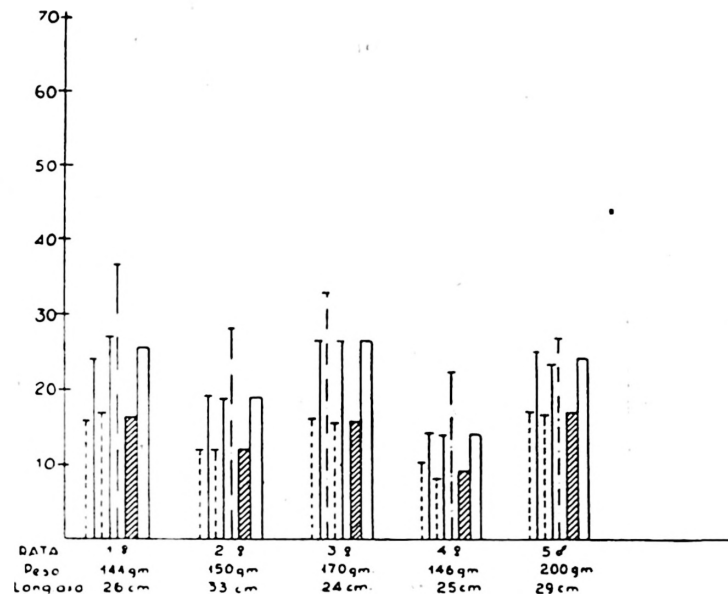


Fig. 1. — Absorción de glucosa con presión de repleción de 5 cms. de agua (Grupo I). En ordenadas, µM de glucosa absorbida por cm. de asa.

- - - - - Absorciones de 10 minutos.
 - - - - - » » 20 »
 - - - - - » » 30 »

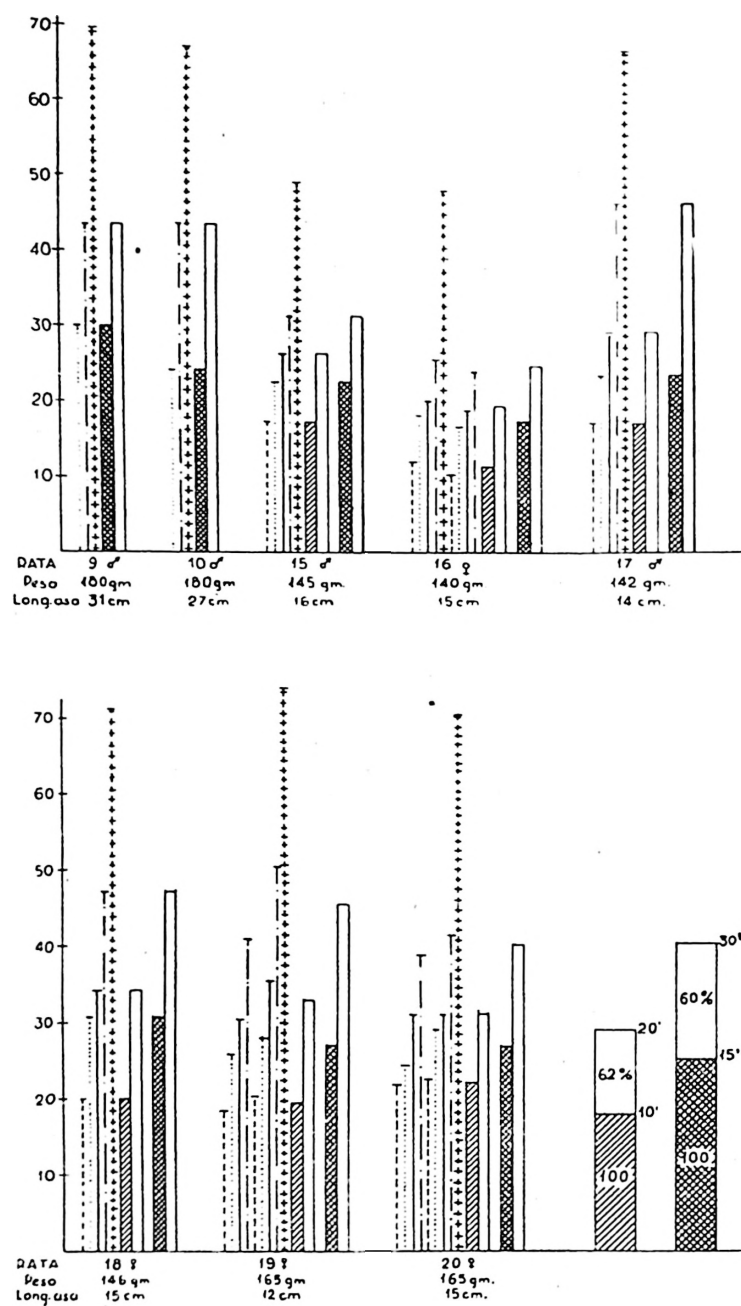


Fig. 2.—Absorción de glucosa con presión de repleción de 12 cms. de agua (Grupo II). En ordenadas, μ M de glucosa absorbida por cm. de asa.

----- Absorciones de 10 minutos
 » » 15 »
 ————— » » 20 »
 - - - - - » » 30 »
 + + + + » » 60 »

de duración con presión de repleción de 5 cm. de agua (grupo I) ; y de 10, 15, 20 y 30 minutos con presión de 12 cm. (grupo II). Los resultados se resumen en las figuras 1 (grupo I) y 2 (grupo II). Las diferentes pruebas sucesivas de absorción en cada animal se expresan por trazos verticales correlativos cuya altura indica la glucosa absorbida (micromoles por cm. de asa) y el tipo de trazado el tiempo de absorción. En cada grupo, los valores promedio de las cantidades absorbidas en los diferentes tiempos se representan al final de las gráficas. En cada animal se efectuaba una última absorción de 30 minutos (grupo I) o de 60 minutos (grupo II) para comprobar que no se ha agotado la glucosa presente en el asa después de 20 (grupo I) o de 30 minutos (grupo II).

La absorción no es función lineal del tiempo. Comparando en la fig. 1 lo absorbido en 10 y 20 minutos se ve que en 10 minutos se absorbe bastante más de la mitad de lo que en 20 ; el duplicar el tiempo no representa un aumento de absorción del 100 %, sino sólo de un 50 % aproximadamente. Con presión de repleción de 12 cm. (fig. 2), al pasar de 10 a 20 minutos aumenta algo más — un 62 % — pero tampoco llega a duplicarse ; con 30 minutos de absorción es también sólo un 60 % más que en 15.

En la fig. 3, que recoge los promedios de absorción de glucosa con presiones de repleción de 12 cm. en períodos de 10, 15, 20, 30 y 60 minutos, se ve cómo el aumento de la absorción con el tiempo no responde a una función lineal. No es así correcto trabajar con tiempos distintos y para comparar referirlos a un tipo admitiendo una proporcionalidad falsa ; la duración debe ser constante en las series a comparar. Sin embargo, el empleo de diferentes tiempos puede ser conveniente para comparar azúcares que son absorbidos a muy diferentes velocidades ; pero entonces hay que tener en cuenta esa falta de proporcionalidad. Estos resultados con soluciones isotónicas de glucosa, contrarios a la general creencia de que la velocidad de absorción de azúcares selectivos es constante con independencia del tiempo, se explican teniendo en cuenta que a medida que se va absorbiendo la glucosa, disminuye su concentración en asa como ya hemos visto. Y como la absorción de soluciones de glucosa no hipertónicas está notablemente influida por su concentración (Vidal-Sivilla 5), a medida que el tiempo pasa y la concentración en asa disminuye, la velocidad de absorción disminuye también.

Comparando los valores de absorción con repleción de 5 y 12 cm. de agua, durante el mismo tiempo, se revela que la absorción es menor en el primer caso que en el segundo ; hecho que se relaciona con el anterior, por cuanto la cantidad de solu-

ción de azúcar que queda en asa es aproximadamente el doble con presión de repleción de 12 cm. que con la de 5 cm. y, consiguientemente, como hemos comprobado, la caída de concentración debida a la glucosa que se va absorbiendo es menos acusada, lo que hace que la absorción en el mismo tiempo sea mayor y la velocidad de absorción disminuya más lentamente.

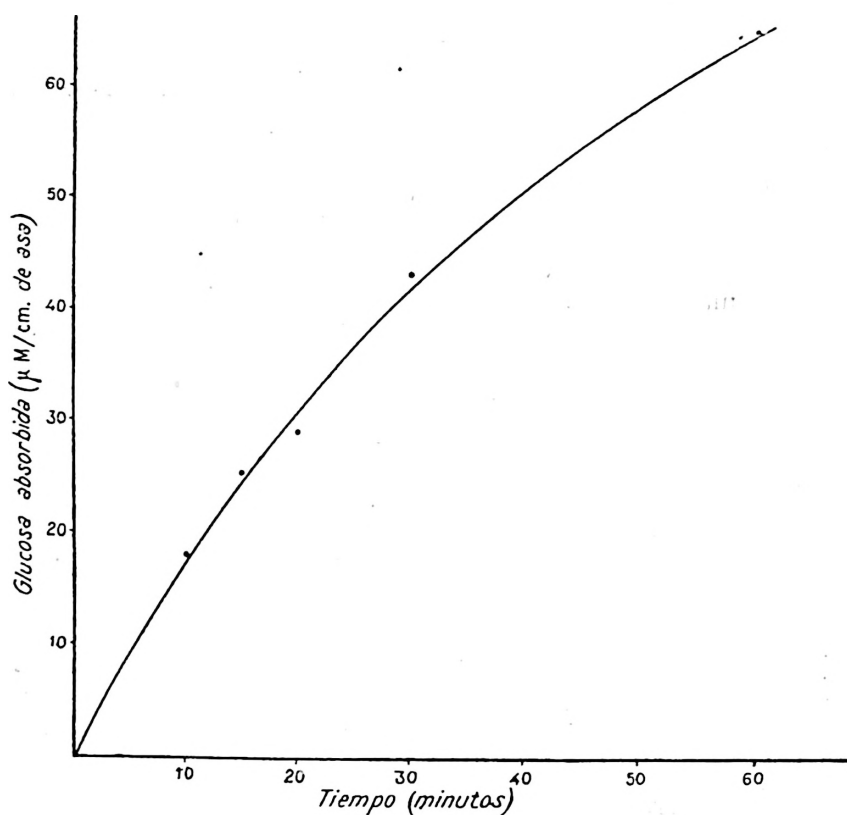


Fig. 3.—Absorción de glucosa en función del tiempo

Las absorciones de 30 y 60 minutos, en las dos series respectivas, sirven de control para demostrar que la reducción de la velocidad de absorción con el tiempo no puede atribuirse a que se hubiera agotado la glucosa presente.

Algunos animales presentan un comportamiento menos constante de lo que representa la fig. 3 obtenida con los promedios; algo así como si la velocidad de absorción se estabilizara en ellos al cabo de algún tiempo. No hay que olvidar que

junto con la absorción de glucosa, al disminuir marcadamente su concentración, se produce una absorción de agua que suaviza la caída de concentración; McDougall y Verzár (1) demostraron que la absorción de agua desde soluciones isotónicas de glucosa aumenta a medida que la glucosa se absorbe, y sobre todo en las fases finales.

b) *Duración óptima de las experiencias de absorción.*

Ha de ser tal que se absorba una cantidad suficiente de glucosa para permitir una diferencia correctamente estimable entre la puesta y la residual; y no ha de ser tan grande que se corra el riesgo de agotamiento de la glucosa en el intestino, lo que anularía diferencias de absorción por los factores en estudio. Tiempos muy cortos aumentan la probabilidad de error, no sólo analítico, sino de medida de la exacta duración de la permanencia de la solución en estudio en el intestino, ya que cualquier anomalía en el flujo del líquido de lavado o de repleción puede traducirse en pequeñas diferencias de tiempo que en períodos muy breves podrían ser de consideración.

Con presión de repleción de 5 cm. de agua y soluciones isotónicas de glucosa puede escogerse entre 10 y 20 minutos. Con presión de 12 cm., la duración de cada prueba puede ser de 15 a 45 minutos.

6. — EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Como se propone en el método original, se refieren a micromoles de glucosa absorbida por centímetro de longitud de asa, pero *especificando el tiempo de absorción respectivo*. No es lícito, como hemos visto, referir a un tiempo tipo, admitiendo proporcionalidad entre absorción de azúcar selectivo y tiempo, por no ser ésta cierta.

Para la referencia a longitud de asa, se extrae ésta del cuerpo, una vez terminadas las experiencias, separándola cuidadosamente del mesenterio. En los resultados aportados en el presente trabajo y en los publicados hasta ahora por los autores se ha tomado como longitud de asa la que ésta tenía cuando se la suspendía libremente de uno de sus extremos.

En la medida del intestino existen factores de variabilidad que en este método, al comparar absorciones sucesivas en una misma asa, no influyen en los resultados y conclusiones. Pero, aunque no sea esencial para el método, es deseable la mayor exactitud posible en la medida del asa, lo que sería además necesario para comparar absorciones de distintos animales como

en otros métodos. Para reducir al mínimo dicha variabilidad se puede aconsejar el siguiente procedimiento aplicable a todos los métodos de absorción en asa aislada: se separa el asa del cuerpo, se la suspende de uno de sus extremos y se cuelga del otro un peso de unos 30 gramos (una pinza de Pean o Kocher resulta muy práctico); las medidas obtenidas con este grado de distensión son bastante constantes.

Conclusiones

Al utilizar el método de absorciones sucesivas de Sols y Ponz, se deben tener en cuenta los siguientes requisitos:

1. Se ha de trabajar a presión de repleción constante.
2. La longitud del asa intestinal ha de guardar relación con el volumen de líquido empleado.
3. La capacidad de tubos y cánulas de entrada y salida debe ser lo más reducida posible.
4. La duración de cada experiencia de absorción ha de ser constante en la serie a comparar, no siendo rigurosamente lícito emplear tiempos distintos y reducirlos a uno determinado.
5. Para absorciones de glucosa isotónica en la rata, supuestas las anteriores condiciones, con asas de 20 a 30 cm. (medida sin distenderlas), el volumen de solución aconsejable es de 10 c. c. con presión de repleción de unos 12 cm. de agua y de 7,5 c. c. si esta última es sólo unos 5 cm. La duración no debe ser superior a 20 minutos si la presión de repleción es de 5 cm., y si ésta es de 12 cm. no sobrepasará los 45.

Se insiste en la necesidad de trabajar a unos 30°C.

Summary

When utilizing the Sols and Ponz method of successive absorptions the following requirements must be taken into account:

1. The filling pressure must be the same in all experiments.
2. The length of the loop of intestine must be chosen to suit the volume of fluid employed (see 5 below).
3. The capacity of the entrance and exit cannulas and tubes must be as reduced as possible.
4. The duration of each experiment of absorption must be constant in the whole series of experiments. However the employ of different times may be convenient in comparing sugars which are absorbed at very different rates, but then it is necessary to take this into account.
5. In order to study the absorption of glucose from isotonic solution (5.4 per cent) in the rat, the best suited conditions according to the above are: loops of about 30 cm. length; a volume of 10 c. c. with water filling pressure of about 12 cm., or 7.5 c. c. with a pressure

of 5 cm. ; and a duration not longer than 45 minutes for the 12 cm. pressure, or 20 minutes for the 5 cm. pressure.

The necessity of working at about 30°C must be insisted upon.

Bibliografía

- (1) McDougall, E. J. y Verzár, F. : *Pfügers Arch.*, 236, 321. 1935.
- (2) Sols, A. : *R. esp. Fisiol.*, 5, 149. 1949.
- (3) Sols, A. y Ponz, F. : *R. esp. Fisiol.*, 2, 211, 1946.
- (4) Sols, A. y Ponz, F. : *R. esp. Fisiol.*, 3, 207. 1947.
- (5) Vidal-Sivilla, S. : *R. esp. Fisiol.*, 6, 131. 1950.

