

Instituto de Fisiología
Facultad de Medicina de Barcelona
(Prof. J. Jiménez-Vargas)

La medida del asa y la variabilidad de los resultados en los métodos de absorción intestinal

por S. Vidal-Sivilla

(Recibido para publicar el 14 de diciembre de 1952)

En todos los métodos de absorción intestinal en asa aislada debe medirse la longitud de ésta para expresar los resultados en cantidad absorbida por una determinada longitud de intestino. Lo ideal sería expresar la absorción por unidad de superficie absorbente, pero la determinación de esta última ofrecería grandes dificultades y se sustituye por la longitud del intestino, admitiendo que la superficie le es proporcional. En general, se suele tomar como longitud del asa la que ésta tiene cuando recién separada del animal es suspendida libremente por uno de sus extremos. Pero en la medida tomada de esta forma existen notables factores de variabilidad, especialmente por el tono de la musculatura lisa, que no es igual en todas las asas en el momento de ser extraídas. Además, en una misma asa la longitud va variando sensiblemente durante el tiempo que sigue a su separación del animal — al principio en el sentido de acortarse rápidamente por aumento de tono y bastante más tarde en el sentido de alargarse lentamente por relajación del músculo —, sin que estas variaciones se produzcan con un ritmo y una intensidad iguales en las asas de distintos animales, probablemente porque dependen del tono inicial en el momento de la extracción y de los cambios pasivos ocasionados por las manipulaciones de separación, aunque éstas sean cuidadosas.

En el método de Cori se soslaya la dificultad de la medida del asa tomando en consideración la absorción de todo el tracto gastrointestinal y expresando los resultados por peso del animal (1).

En el método de absorciones sucesivas propuesto por Sols y

Ponz los resultados se expresan en micromoles absorbidos durante un tiempo determinado por 1 cm. de intestino. Para medir este último el asa es suspendida libremente por uno de sus extremos. Como en este método se comparan absorciones sucesivas en una misma asa, los factores de variabilidad en la medida de ésta 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 los otros métodos de asa aislada en general. Con este fin, en un trabajo anterior en colaboración con Sols y Ponz (6) sugeríamos una modificación en la medida del intestino aplicable a todos los métodos de absorción en asa aislada: después de separar el asa del cuerpo del animal es suspendida por uno de sus extremos y se cuelga del otro un peso de 25 ó 30 gr. (unas pinzas de Pean o de Kocher); la medida obtenida con este grado de distensión se mantiene bastante constante durante largo tiempo. Suponíamos al hacer esta sugerencia que así se mide mejor la longitud anatómica del intestino, sin la interferencia del grado variable de contracción muscular tónica que cede por el peso suspendido.

No obstante, el valor que pueda tener esta modificación para una mayor exactitud en la expresión de los resultados de absorción, no puede establecerse «a priori» y sólo puede enjuiciarse después de comparar los resultados de absorción en animales normales calculados según la medida antigua del asa y según la medida por la modificación sugerida. Con esta finalidad, desde la publicación de dicha sugerencia hasta la fecha, en todas las experiencias de absorción realizadas por nosotros hemos cuidado de efectuar la medida del asa en las dos formas. En el presente trabajo recogemos los cálculos efectuados con estos datos y hacemos su comparación estadística.

Material y métodos

Se utilizaron ratas de ambos sexos de unos seis meses de edad, cuyo peso oscilaba alrededor de unos 150 gr., siendo anestesiadas con etiluretano. Las experiencias se practicaron con el dispositivo y la técnica descritos para absorciones sucesivas (3, 4), empleando 10 c. c. de solución isotónica del glícido con repleción del asa a presión hidrostática de 12 cm. de agua (6). La duración de los períodos de absorción fué de diez minutos para las experiencias con glucosa y con galactosa; de treinta minutos para las experiencias con levulosa, y de treinta a noventa minutos para las de otros glúcidos — xilosa, sorbosa, manosa, arabinosa y ramnosa — cuya absorción es más lenta.

El asa era separada del cuerpo del animal inmediatamente después de las experiencias de absorción, cortando cuidadosamente el mesenterio, y se suspendía de manera que colgase libremente. Se medía su longitud cinco minutos después (medida sin lastre) y luego se fijaba una pinza de 25 gr. de peso en el extremo libre, dejándola colgar para que distendiera el asa, y se medía su longitud en estas condiciones (medida con lastre).

La cantidad de glícido absorbido se calculaba determinando la cantidad residual por la técnica colorimétrica de Sols previas las oportunas diluciones (5). Lo calculado se refería a 1 cm. de intestino, obteniéndose las dos cifras correspondientes a las dos maneras de medir el asa.

Resultados

Con lo absorbido de cada glícido por diferentes animales, se obtuvieron dos series de valores según que la medida del asa se hubiese practicado con lastre o sin lastre. De ambas series por cálculo estadístico se determinó la media M (μM absorbidos por 1 cm. de intestino en diez minutos), la dispersión cuadrática σ y el coeficiente de variación V , con los errores medios correspondientes. Entre las dos series de cada glícido se calculó el índice de correlación r y se verificó el valor del cociente entre las medias c , indicándose el número de individuos n de que constaban (tabla I).

Para glúcidos no selectivos o poco selectivos cuyo período de absorción duró más de diez minutos — levulosa, xilosa, sorbosa, manosa, arabinosa y ramnosa — los resultados se redujeron proporcionalmente a lo absorbido en diez minutos para que la tabla tuviese un mayor valor comparativo. En algunos animales en los cuales se habían practicado varias absorciones sucesivas del mismo glícido en las mismas condiciones, se tomó el valor medio de estas absorciones sucesivas como única cifra para figurar en la serie.

En todos los glúcidos se observa que la cantidad media absorbida, cuando se calcula por la medida del asa suspendida libremente, es aproximadamente doble que la que resulta calculando con la medida del asa suspendida con lastre de 25 gr. El cociente de los dos valores medios de cada glícido oscila entre las cifras extremas de 1,90 y 2,13 para los ocho glúcidos estudiados.

En cada glícido los coeficientes de variación de las dos series presentan sólo pequeñas diferencias, que no son siempre del mismo sentido. Así, para la galactosa, la glucosa y la levulosa existe mayor variabilidad en la serie de resultados obtenidos midiendo el asa con lastre, mientras que para los demás glúcidos los resultados obtenidos con esta medida son de una variabilidad ligera-

	Ara medida	N.º individuos (n)	µ. M absorbidos por cm. de intestino en 10'. Media (M)	Cociente entre las medias (c)	Dispersión cuadrática (σ)	Coefficiente de variación (V)	Indice de correlación (r)
Galactosa	sin lastre	49	20,00 ± 0,59	2,04	4,14 ± 0,41	20,70 ± 2,10	0,91 ± 0,02
	con lastre		9,76 ± 0,29		2,05 ± 0,21	21,00 ± 2,12	
Glucosa	sin lastre	58	19,66 ± 0,58	2,04	4,41 ± 0,41	22,43 ± 2,08	0,92 ± 0,02
	con lastre		9,62 ± 0,30		2,29 ± 0,21	23,85 ± 2,21	
Levulosa	sin lastre	32	6,00 ± 0,33	2,13	1,85 ± 0,23	30,88 ± 3,86	0,96 ± 0,01
	con lastre		2,81 ± 0,18		1,03 ± 0,13	36,83 ± 4,60	
Xilosa	sin lastre	20	2,72 ± 0,21	2,02	0,97 ± 0,15	35,62 ± 5,63	0,90 ± 0,04
	con lastre		1,35 ± 0,09		0,40 ± 0,06	29,48 ± 4,66	
Sorbosa	sin lastre	16	2,46 ± 0,28	2,02	1,14 ± 0,20	46,34 ± 8,19	0,96 ± 0,02
	con lastre		1,22 ± 0,14		0,55 ± 0,10	45,08 ± 7,96	
Manosa	sin lastre	16	1,38 ± 0,16	1,97	0,65 ± 0,11	47,10 ± 8,32	0,99 ± 0,01
	con lastre		0,70 ± 0,08		0,32 ± 0,06	45,88 ± 8,10	
Arabinosa	sin lastre	20	1,20 ± 0,14	1,90	0,62 ± 0,10	51,66 ± 8,16	0,97 ± 0,01
	con lastre		0,63 ± 0,07		0,31 ± 0,05	49,68 ± 7,85	
Ramnosa	sin lastre	16	0,55 ± 0,08	2,12	0,32 ± 0,06	57,45 ± 10,15	0,95 ± 0,03
	con lastre		0,26 ± 0,04		0,14 ± 0,03	55,00 ± 9,72	

mente menor que los hallados midiendo el asa sin lastre. Pero, en todo caso, estas diferencias no son significativas puesto que están comprendidas dentro de los límites de error medio calculado para cada coeficiente de variación.

Los índices de correlación entre las dos series de cada glícido son muy elevados — de 0,99 para la manosa, de 0,97 para la arabinosa, y de 0,96 para la levulosa y sorbosa — y ninguno inferior a 0,90; lo que demuestra que, a pesar de su mucha diferencia absoluta, existe una gran correspondencia entre las dos medidas del intestino. Su proporción es aproximadamente de 2 (medida con lastre) a 1 (medida sin lastre), que, naturalmente, resulta invertida en la expresión de los resultados de absorción. Las asas utilizadas tenían una longitud que oscilaba alrededor de 20 cm. cuando se las medía sin lastre.

Los coeficientes de variación de los valores de absorción normal expresada en función de la longitud son bastante elevados para todos los glúcidos. Las series de menor variabilidad son las de absorción de galactosa y glucosa (coeficientes comprendidos entre 20 y 24); en los demás glúcidos la variabilidad es tanto mayor cuanto menor es la intensidad con que se absorben, y así, para la arabinosa y la ramnosa, los coeficientes son superiores a 50.

Los datos de absorción de glucosa, arabinosa y galactosa se reagruparon en series separadas según el sexo de los animales, pero la aplicación del cálculo estadístico a la serie de individuos machos y a la de individuos hembras, dió aproximadamente los mismos resultados y coeficientes de variación que los de las series correspondientes que figuran en la tabla sin distinción de sexos.

También con los datos individuales de los tres glúcidos citados se hizo un cálculo de lo absorbido por 1 cm. de intestino para expresarlo, además, en función del peso del animal. Se obtuvieron así series de valores de absorción que expresaban la cantidad del glícido absorbido por 1 cm. de intestino y por 100 gr. de peso del animal. Comparando estas series con las que figuran en la tabla se observó que los coeficientes de variación disminuían ligeramente, pero sin que esta diferencia fuese significativa, porque estaba comprendida dentro de los límites de error medio. En realidad no podía ser grande, porque las diferencias de peso entre los animales empleados eran muy pequeñas. (Los resultados de estos cálculos complementarios de series de valores en relación con el peso y los citados antes en relación con el sexo, se han omitido en la tabla.)

Discusión

Entre los valores de absorción de glúcidos por ratas normales, expresados en función de la longitud de intestino, existe una gran variabilidad, mayor de la que se suele observar en otras características fisiológicas normales determinadas experimentalmente en las ratas. Esta variabilidad es sensiblemente igual si se ha medido el intestino suspendido libremente como si se ha medido con un lastre de 25 gr. que anulase la contracción tónica de la musculatura lisa. En general, hay bastante correspondencia entre las medidas de un asa tomadas tal como se ha indicado, siendo la segunda aproximadamente igual al doble de la primera. Según se desprende de nuestros resultados complementarios, dicha variabilidad no puede atribuirse al sexo. La influencia que puedan tener los factores de peso y edad, ha sido eliminada en nuestras experiencias al emplear lotes de animales de edad y peso aproximadamente iguales. Si no se hace así éstos podrían ser factores de variación no despreciables (1, 2).

Parece lógico suponer que, entre los valores normales de intensidad de absorción intestinal, no deberían existir diferencias individuales tan acusadas y que, como ocurre en otras constantes fisiológicas determinadas en las ratas, la variabilidad individual debería ser menor. Creemos que esta gran variabilidad es debida a la necesidad de calcular y expresar los resultados en función de la longitud del intestino. La medida con lastre puede tomarse como medida bastante exacta de la longitud anatómica del intestino, porque al anular su contracción variable ofrece una mayor constancia en el tiempo. Pero es muy diferente de la longitud que realmente presenta el intestino «in situ» durante las experiencias de absorción. Esta longitud fisiológica dependerá del tono actual en la musculatura lisa y de las inflexiones y de la situación del asa en sus distintas partes. La extensión de la superficie de mucosa realmente en contacto pleno y directo con el líquido no ha de ser igual a la extensión de la superficie anatómica de la mucosa y, por consiguiente, no sería proporcional a la longitud anatómica del intestino. Tampoco se puede pretender expresar la extensión real de esta superficie fisiológica de absorción por la longitud que tiene el intestino, cuando se mide después de suspenderlo libremente por uno de sus extremos, porque está presentando una contracción tónica que varía por momentos y, además, al cortar el mesenterio, han desaparecido sus inflexiones.

Es probable también que la contracción del músculo liso, la situación y las inflexiones de las distintas partes del asa y del mesenterio «in situ», puedan influir en la absorción, no solamente haciendo variar la superficie de contacto con el líquido a absor-

ber, sino también haciendo que sean diferentes las condiciones de irrigación y de aporte de oxígeno a distintas porciones de epitelio del asa. De esta manera la actividad de absorción puede ser irregularmente desigual en distintas partes de un asa, dependiendo de factores fisiológicos circunstanciales muy variables y que no quedan expresados en la simple medida de longitud que se hace después de las absorciones. Esto que suponemos que acontece en las condiciones experimentales de nuestras investigaciones, es probable que ocurra también en las condiciones fisiológicas normales no experimentales: es decir, que así como en el riñón se admite que en un momento dado existen nefronas inactivas y otras con diferentes grados de actividad, también en el epitelio intestinal durante la absorción existirían células o partes del epitelio inactivas y otras más o menos activas. La extensión y la distribución de estas partes de diferente actividad dependerían en buena parte, como ocurre también en las nefronas del riñón, de las circunstancias parciales de irrigación local, que estarían condicionadas por el tono muscular de las paredes y por la situación e inflexiones del asa y del mesenterio.

No es probable que se modifique la distribución de partes más o menos activas en el curso de experiencias sucesivas en una misma asa, según el método de Sols y Ponz. Por lo menos, la supresión de manipulaciones en el abdomen para cambiar el contenido del asa, evita los cambios que en otro caso se producirían en la situación e inflexiones del asa y del mesenterio. Los cambios activos o espontáneos que se pudieran producir serían de menor importancia. Esto estaría de acuerdo con la notable constancia o poca variabilidad que se observa en los resultados de absorciones sucesivas en una misma asa intestinal, practicadas según dicho método.

Aunque la comparación de las series de distintos glúcidos sólo puede hacerse con reservas, por no constar del mismo número de animales, es interesante observar que los coeficientes de variación en la absorción de glúcidos no selectivos o poco selectivos son todavía mayores que los obtenidos para glúcidos muy selectivos como la glucosa y la galactosa. De esto podría deducirse que las circunstancias variables de superficie fisiológica de contacto con el líquido y de distribución parcial de la irrigación sanguínea, influyen menos en la absorción de glúcidos selectivos que en la de glúcidos no selectivos, que tiene lugar por procesos de difusión. Cabe también la posibilidad de que la mayor variación observada en glúcidos no selectivos sea debida a una mayor variabilidad en la cifra absorbida al calcularla por deducción de la cantidad residual: cuando ésta es elevada, como ocurre en los glúcidos no selectivos, el porcentaje de error en su determinación colorimétrica tiene una repercusión proporcionalmente mayor sobre las dife-

rencias por las que se deduce la cantidad absorbida. Así debe admitirse por lo menos para la arabinosa y para la ramnosa, pues a pesar de la mayor duración de los períodos de absorción en estos glúcidos — noventa minutos — no se consiguió neutralizar dicho factor. En los otros glúcidos, cuyas cantidades absorbidas, empleando tiempos adecuados, fueron más semejantes a las de glucosa y galactosa, la repercusión del porcentaje de error de determinación colorimétrica no pudo haber sido muy diferente.

De los trabajos de investigación de otros autores con métodos de asa aislada, publicados hasta fecha relativamente reciente (9), son pocos aquellos cuyos resultados fueron sometidos a un riguroso cálculo estadístico. Si este cálculo se aplica a los datos que figuran en los protocolos de otros autores se obtienen coeficientes de variación elevados y, en general, parecidos a los calculados para nuestras experiencias. En algunos resultados de Verzar y colaboradores se puede calcular una variación menor, pero quizá no corresponde realmente a una menor variabilidad de intensidad de absorción, sino a una circunstancia particular de las experiencias de aquellos autores que, a nuestro juicio, es importante para valorar los resultados: Los períodos de absorción fueron excesivamente largos, pues sus experiencias solían durar más de media hora — generalmente una hora — y éste es un tiempo más que suficiente para que las soluciones de glúcidos corrientemente empleadas se hubiesen agotado casi completamente en el asa. Dada la influencia que la concentración tiene sobre la absorción (7), debieron quedar atenuadas en los resultados las diferencias individuales existentes dentro de los lotes de animales normales.

Las consideraciones expuestas nos llevan a la conclusión de que en los métodos de asa aislada «in situ», la comparación de los resultados de absorción de animales o de asas diferentes, sólo puede hacerse con mucha reserva, por las notables variaciones que se observan en animales normales. Estas no se deben probablemente a diferencias individuales, sino a circunstancias accidentales del asa, cuya influencia no se puede evitar con la simple medida de su longitud, aunque se introduzcan modificaciones pretendiendo la mayor exactitud posible. La influencia de dichas circunstancias se puede evitar o atenuar si se comparan absorciones sucesivas en una misma asa, por lo que éste debe ser el método preferido en el estudio de problemas de absorción intestinal. El método de Cori soslaya quizá estos inconvenientes al considerar la absorción como resultado del funcionamiento integral de todo el tracto gastrointestinal; pero, por otra parte, es criticable como método no fisiológico porque requiere el empleo de soluciones muy hipertónicas (8).

Resumen

Se recogen resultados de experiencias de absorción intestinal en animales normales distribuidos en ocho lotes correspondientes a los siguientes glúcidos estudiados: galactosa, glucosa, levulosa, xilosa, sorbosa, manosa, arabinosa y ramnosa.

De la longitud de cada asa intestinal utilizada, después de suspenderla por un extremo, se tomaron dos medidas: una colgando libremente sin lastre y otra estando distendida por un peso de 25 gr. para anular la contracción variable del músculo. Calculados los resultados según estas dos medidas se obtuvieron dos series de valores para cada lote de animales correspondientes a un glícido determinado. Se comparan las dos series estadísticamente, indicándose sus características en una tabla. Los coeficientes de variación son bastante elevados en todos los casos, sin que se observen diferencias significativas por la manera cómo se ha medido el asa.

Se discuten las causas de esta notable variabilidad en la absorción normal de cada glícido. Se llega a la conclusión de que no se debe, probablemente, a diferencias individuales sino a circunstancias accidentales del asa, cuya influencia no se puede evitar por la simple medida de su longitud, aunque se intente obtenerla con la mayor exactitud y en diferentes condiciones.

Se sugiere que la contracción tónica del músculo liso y la situación e inflexiones del asa y del mesenterio en el abdomen, al condicionar la superficie fisiológica de contacto con el líquido a absorber y la irrigación sanguínea de las distintas partes del asa, pueden influir notablemente en la cantidad absorbida, de tal manera que ésta no ha de ser solamente proporcional a la longitud anatómica del asa.

La influencia de las circunstancias accidentales mencionadas no sería factor de variación o lo sería muy atenuado cuando se comparan absorciones sucesivas en una misma asa siguiendo la técnica de Sols y Ponz. Por el contrario, la comparación de resultados de absorción de animales o de asas diferentes sólo puede hacerse con mucha reserva, por las notables variaciones que se observan en los animales normales aun procurando que estén en las mismas condiciones experimentales y que el asa sea medida con la mayor exactitud posible.

Summary

The results of intestinal absorption experiments in normal animals are collected. These are distributed in eight lots corresponding to the following carbohydrates studied: galactose, glucose, levulose, xilose, sorbose, mannose, arabinose and ramnose.

Two measurements were taken of the length of every intestinal loop utilized, one with the loop hanging freely and the other with it hanging distended by a weight of 25 grs. in order to counteract de variable muscular contraction. The results of these two measurements having been calculated, two series of values for each lot of animals corresponding to a determined carbohydrate were obtained. The two series were compared statistically and the characteristics stated in a table. The variation coefficients were rather high in all cases and no significative difference was observed when the loop was measured in one the other way.

The cause of this notable variability in the normal absorption of every carbohydrate is discussed. The conclusion was come to that the former is

probably not due to individual differences but to accidental circumstances of the loop, the influence of which cannot be avoided by simple measurement of the length, even attempting it with the greatest accuracy and in different conditions.

It is suggested that the tonic contraction of the flat muscle and the situation and inflexions of the loop and mesentery in the abdomen, on conditioning the physiological surface with the solution to be absorbed and the blood stream in the different parts of the loop, may have a notable influence on the quantity absorbed, in such a way that the latter is not only proportional to the anatomical length of the loop.

The influence of the accidental circumstances mentioned would not be an important factor of variation when successive absorptions in the same loop are compared by Sols and Ponz's method. On the contrary, the comparison of absorption results in different animals or in different loops can be made only with reserve by reason of the variations observed in normal animals even when same are in similar experimental conditions and the loop measured with the greatest possible accuracy.

Bibliografía

- (1) CORI, C. F. : *J. Biol. Chem.*, **66**, 691, 1925.
- (2) PENHOS, J. C. : *R. Soc. Arg. Biol.*, **22**, 377, 1946.
- (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) SOLS, A. : *R. esp. Fisiol.*, **5**, 149, 1949.
- (6) VIDAL-SIVILLA, S., SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 195, 1950.
- (7) VIDAL-SIVILLA, S. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 131, 1950.
- (8) VIDAL-SIVILLA, S. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 143, 1950.
- (9) Véase bibliografía citada por el autor en sus publicaciones (7), (8), *R. esp. Fisiol.*, **5**, 287, 1949.