

Laboratorio de Fisiología Animal. Facultad de Ciencias
Universidad de Barcelona

Modificación de la técnica de absorciones sucesivas de Sols y Ponz para sustancias poco penetrantes

por

F. Ponz y M. Lluch

(Recibido para publicar el 20 de noviembre de 1960)

La técnica de absorciones sucesivas por el intestino propuesta por SOLS y PONZ en 1947 (3) permite eliminar la variabilidad individual al comparar la absorción de distintas sustancias, o de una misma sustancia en condiciones experimentales diferentes, en un mismo segmento de intestino que quedaba *in situ* en la cavidad abdominal. Se basa en el hecho, suficientemente comprobado en el campo de los azúcares, de que la absorción de una sustancia en iguales condiciones experimentales se mantiene prácticamente constante a lo largo de una serie de absorciones sucesivas.

Consiste en aislar entre dos cánulas un segmento de intestino de longitud variable que, una vez lavado para arrastrar residuos, queda dentro del abdomen con las cánulas abocadas al exterior. Éstas, permitían dejar al asa intestinal incluida en un circuito de perfusión o simplemente introducir la solución a absorber, que al cabo de un cierto tiempo es arrastrada y recogida cuantitativamente para determinar el azúcar residual y con ello el absorbido por diferencia con el puesto.

Al aplicar esta técnica a la absorción de azúcares por la rata, se utilizan 7,5 a 10 ml. de solución, de los que en el intestino quedan aproximadamente 2 ml. por cada 10 cm. de longitud de asa, si la presión de repleción es de unos 12 cm.

de agua (4). La cantidad de glucosa absorbida en estas condiciones, a partir de soluciones 0,3 M, es de unos 40 μM por centímetro de longitud de intestino en 30 minutos, lo que supone una diferencia de concentración del azúcar en las soluciones inicial y final perfectamente determinables, aún cuando el tiempo de absorción sea de diez minutos.

Cuando se trabaja en cambio con azúcares que penetran lentamente por la mucosa intestinal, la absorción es notablemente menor. Con arabinosa y ramnosa 0,3 M, por ejemplo, pueden encontrarse absorciones de unos 6 y 4 $\mu\text{M}/\text{cm}$ respectivamente en 30 minutos. Esto supone que si se utilizan 10 ml. de solución inicial, se pasaría de 3000 μM a 2880 ó 2920 μM respectivamente, si el asa intestinal es de unos 20 cm., lo que representa diferencias no bien determinables. En la técnica original se aconsejaba por ello utilizar en estos casos asas más largas, tiempos mayores y volúmenes de solución para la repleción del asa de 7,5 ml., lo que permite trabajar con unas diferencias entre azúcar inicial y final más ventajosas.

Sin embargo, aún en estas condiciones, no pueden apreciarse con seguridad efectos sobre la absorción, a no ser que sean muy marcados, ya que en otro caso, es fácil queden enmascarados por los errores del método analítico empleado en valorar el azúcar. Además, al tratarse de sustancias casi siempre de precio elevado, el utilizar 7,5 ml. de solución en cada absorción, supone un consumo notable del azúcar en cada experiencia.

Estas razones nos indujeron a modificar la técnica original en el sentido de reducir los espacios ocupados por la solución fuera del intestino y cambiar el sistema de repleción.

Técnica

Ratas de 110 a 200 gramos de peso, anestesiadas con uretano subcutáneo o con pentobarbital sódico, mantenidas en ambiente a unos 30°C, son laparotomizadas y se introduce por un punto del yeyuno proximal a modo de cánula de entrada un tubo de polieteno de unos 5 cm de longitud y de 2 a 3 mm de diámetro, de modo que quede dentro del intestino unos 5 mm de tubo sujeto mediante la correspondiente ligadura. A una cierta distancia, según se desee la longitud del segmento intestinal, se coloca de igual modo otro tubo idéntico que sirve de cánula de salida. Los tubos de entrada y salida pueden cerrarse mediante pinzas adecuadas.

Con ayuda de una jeringa de 10 ó 20 ml. adaptada a la

cánula de entrada se procede a lavar varias veces con solución fisiológica el intestino, que se dispone dentro de la cavidad abdominal cerrada luego mediante clips o unos puntos de sutura.

Una vez bien lavado el intestino, se expulsa el líquido residual, haciendo pasar aire a presión mediante la misma jeringa hasta completo vaciado del mismo.

A continuación se deposita mediante pipeta en la jeringa desprovista del émbolo una cantidad exactamente medida de solución de azúcar (unos 2 ml. de solución por cada 10 cm de longitud de asa), mientras se deja abierta la cánula de salida por la que escapa el aire, a medida que va entrando libremente la solución. Una vez que ésta ha llenado del todo el segmento de intestino, se deja seguir fluyendo a un matraz aforado de 100 ml. hasta que el nivel de la solución en la cánula de entrada está unos dos cm por debajo de su extremo superior. En este momento se cierra la cánula de salida.

La repleción se hace así a unos 3 ó 4 cm de agua. Es aconsejable utilizar tiempos de absorción de al menos 20 ó 30 minutos, o aún mejor de una hora, cuando se trata de azúcares poco absorbibles.

Al fin del tiempo de absorción, se arrastra la solución residual con solución isotónica de ClNa (0,9 %), con la misma jeringa, lavando repetidas veces. La solución junto con los líquidos de lavado se recogen en el mismo matraz aforado. Por último se expulsa de nuevo con aire el resto de líquido de lavado del asa como se ha indicado anteriormente, con lo que la preparación queda en condiciones de iniciar una segunda absorción.

Es muy interesante que al penetrar la solución a absorber en el segmento de intestino, no quede aire que forme burbujas en el interior, ya que esto disminuiría tanto la cantidad de solución dentro del asa, como la superficie de mucosa en contacto con aquélla. Trabajando como se ha descrito y devolviendo el yeyuno a la cavidad abdominal con cierto cuidado para que no se produzcan fuertes acodaduras, se consigue eliminar perfectamente el aire a medida que la solución a absorber avanza por el intestino, sin necesidad de presión adicional alguna.

Las determinaciones de azúcar se han hecho según SOMOGY (2).

Resultados

A título de ejemplo se incluyen las Tablas I y II que recogen los resultados de la absorción de glucosa (5,4 %, 15 minu-

tos) y de L-arabinosa (4,5 % y 60 minutos) respectivamente, expresados en μM de azúcar absorbido por centímetro de intestino. En todos los casos se han practicado cuatro absorciones sucesivas en iguales condiciones.

TABLA I

Absorción de glucosa (0,3 M) en pruebas sucesivas de 15 minutos, por yeyuno de rata

Peso gr.	Asa cm.	Glucosa absorbida ($\mu\text{m/cm}$)			
		1.ª Abs.	2.ª Abs.	3.ª Abs.	4.ª Abs.
150	11	15	12	15	15
230	9	16	16	16	17
135	10	17	17	17	15
210	10	16	16	17	15
127	10	13	13	13	12
143	9	13	13	12	10
137	9	11	11	11	16
127	10	13	14	13	13
137	9	19	19	19	18
213	10	22	21	21	22
137	9	20	21	20	22

TABLA II

Absorción de L-arabinosa (0,3 M) en pruebas de 60 minutos, por yeyuno de rata

Peso gr.	Asa cm.	Arabinosa absorbida ($\mu\text{m/cm}$)			
		1.ª Abs.	2.ª Abs.	3.ª Abs.	4.ª Abs.
95	6	20	10	10	10
145	11	19	16	16	15
119	10	21	15	14	15
175	11	12	9	9	6
135	8	19	8	7	6
153	9	10	5	6	5
197	8	12	5	4	4

En nuestras experiencias con asas de unos 10 cm de longitud se utilizaban 2 ml. de solución de azúcar 0,3 M, lo que equivale a 600 μM . Como en 15 minutos se absorben del orden de unos 15 μM de glucosa por centímetro de intestino, es decir, unos 150 μM en total (un 25 % del azúcar inicial), las diferencias de concentración a valorar son bien determinables. En

el caso de la arabinosa, para alcanzar tantos por ciento de absorción semejantes, se deben utilizar tiempos de 60 minutos.

Puede apreciarse la gran regularidad que se observa en las absorciones de glucosa practicadas en un mismo animal. En cambio, los distintos animales presentan amplia variabilidad individual. Se confirma también con esta modificación las ventajas que supone la técnica de absorciones sucesivas para estudios comparativos en el mismo segmento de intestino.

Llama la atención el hecho de que la primera absorción de arabinosa isotónica es siempre notablemente superior a las siguientes, aunque éstas son ya iguales entre sí, en un mismo animal. Este comportamiento fue observado ya por LARRALDE y GIRÁLDEZ (1) con manosa y arabinosa. Por ello es aconsejable que en caso de estudios de absorción de estos azúcares en distintas condiciones, no se tenga en cuenta la primera absorción para el cálculo de la absorción normal.

Resumen

Se modifica la técnica de absorciones sucesivas de SOLS y Ponz para su aplicación al intestino de rata con azúcares poco absorbibles. La modificación consiste en sustituir el dispositivo de repleción del asa por tubos cortos y delgados de politeno, utilizando una jeringa acoplada al tubo de entrada para el lavado y repleción del intestino. Se exponen los resultados de absorción de glucosa y arabinosa.

Summary

A modification to the Sols and Ponz's method of successive absorptions, for slow penetrating substances

The SOLS and PONZ's method of successive absorptions *in situ* as applied to the rat intestine, uses 7.5-10.00 ml as initial volume of solution. The quantity of the absorbed sugar is well determined as the difference between the initial and the residual one, when the sugars are rapidly absorbed but with pentoses or other sugars slowly absorbed, the evaluation presents some difficulties because that difference is then small.

The modification proposed by the authors consists in replacing the dispositive of funnels, tubes and cannulae by two polythene tubes of 2 at 3 mm diameter and 5 cm long which serve as inlet and outlet cannulae at the two ends of the elected intestinal loop.

A 10-20 ml syringe conected at the proximal tube, allows the repeated washing out of the loop with saline, and next, to

pour completely the residual saline out by passing of air. An exactly measured quantity of solution to be absorbed is put then in the syringe cylinder and is left to flow into the loop and drive out all the air. Then, the outlet tube is closed. At the end of the absorption time the residual solution is washed out with saline quantitatively for sugar determination and the loop remains ready to performe in it sucessive absorptions.

The results with D-glucose and L-arabinose 0.3 M are shown, with absorption times of 15 and 60 min. respectively. Glucose absorption is very constant in the different succesives absorptions in the same animal. The first absorption of arabinose is always higher than the succesives ones, but in these last the absorption remains also constant.

Bibliografia

- (1) LARRALDE, J. y GIRÁLDEZ, A.: *R. esp. Fisiol.*, **13**, 253, 1957.
- (2) SOLS, A.: *R. esp. Fisiol.*, **5**, 149, 1949.
- (3) SOLS, A. y PONZ, F.: *R. esp. Fisiol.*, **3**, 207, 1947.
- (4) VIDAL-SIVILLA, S., SOLS, A. y PONZ, F.: *R. esp. Fisiol.*, **6**, 195, 1950.