

Absorción de galactosa *in vivo* por intestino de pollo *

M.^a J. Ruano, J. Larralde y M. Lluch

Departamento de Fisiología Animal
Universidad de Navarra
Pamplona (España)

(Recibido el 24 de junio de 1974)

M.^a J. RUANO, J. LARRALDE and M. LLUCH. *Galactose Chicken Intestinal Absorption in vivo*. Rev. esp. Fisiol., 30, 283-288. 1974.

This work includes the possible research application *in vivo* method of successive absorptions in the chicken (*Gallus domesticus*) small intestine and the best experimental conditions to make it effective. The results indicate that this technique is also applicable to the study of the chicken sugar intestinal absorption.

The galactose 2.77 mM absorption constancy found is considerable, at least during six successive 10 minutes periods. The active galactose transport by the chicken small intestine loops, shows a Michaelis-Menten kinetics with an apparent K_m of 15.83 mM and a maximum absorption rate of 2 μ moles/cm intestine/10 min.

The influence of the absorption time, repletion pressure, intestinal portion of maximum transport rate and animal age, has also been studied. The required conditions to obtain the best results have been 6 cm water repletion pressure, and intestinal loops prepared from central portions of the small intestine.

The absorption rate differences in 2 to 4 week old chickens have not been significant.

Dentro de las técnicas de estudio de la absorción intestinal *in vivo* es muy utilizada la de absorciones sucesivas de SOLS y PONZ (25). Principalmente se ha aplicado al estudio de factores inhibidores o aceleradores de la absorción, o de la mutua inhibición entre sustancias, en especial si, como suele suceder, la cantidad de sustancia absorbida en condiciones control es constante en períodos sucesivos de absorción de igual duración.

Sus autores dieron a conocer esta técnica en la absorción de monosacáridos por el intestino de rata. En posteriores trabajos se ha comprobado su utilidad en el estudio de la absorción de aminoácidos (11), o en especies diferentes de mamíferos como el hamster (8), el gato (15) o el cobaya (16). Recientemente se ha aplicado también al estudio de la absorción en el hombre (17).

Dado el creciente interés en la utilización de las aves en el estudio de diversos problemas de la absorción intestinal (10, 20, 21), se estudia en el presente trabajo

* Trabajo realizado con una Beca de Iniciación a la Investigación del M.E.C.

la posible aplicación de la técnica de absorciones sucesivas por el intestino de pollo, investigando algunas características de este órgano capaz de transporte activo por un mecanismo que se considera análogo al de intestino de mamífero (1) aun cuando con ciertas diferencias (10).

Material y métodos

Se han utilizado pollos broilers (*Gallus domesticus*), de 100 a 200 g, anestesiados con solución de uretano. En forma análoga a la descrita (25), después de una incisión ventral, se preparó un segmento intestinal de 10 a 20 cm de longitud, que se canuló por sus dos extremos. Se lavó el contenido del intestino con una solución de ClNa al 9‰ y para las absorciones se utilizaron 10 ml de la solución de azúcar. Se mantuvo la temperatura ambiente de modo que las oscilaciones en la temperatura cloacal durante el experimento no fueran mayores de 0,3° C. La determinación del azúcar se hizo según el método de SOMOGYI (26). En los resultados se expresan los valores medios del azúcar absorbido en los distintos experimentos expresados en $\mu\text{M}/\text{cm}$ de longitud del intestino junto con su error estándar.

Resultados

Estudio de la variabilidad de sucesivas absorciones en la misma asa. Se han ensayado concentraciones comprendidas entre 2,77 y 22,16 mM de galactosa a

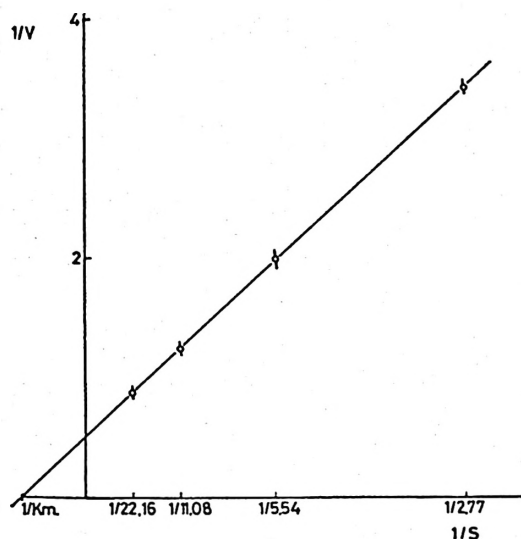


Fig. 1. Cinética del transporte activo de galactosa in vivo por intestino delgado de pollo. Tiempo de absorción, 10 minutos. Los datos se acompañan del error standard. Cada punto indica el valor medio de 8 experimentos.

lo largo de seis períodos de absorción de 10 minutos. El azúcar se ha disuelto en una solución de ClNa al 9‰ y se han realizado las correcciones necesarias para que las soluciones fuesen isotónicas en todos los casos. Puede observarse (tabla I) la existencia de una gran constancia en la velocidad del transporte a lo largo del tiempo.

A partir de los datos anteriores se han calculado, de acuerdo con la representación gráfica de Lineweaver-Burk, los valores de la K_m aparente y de la V_{max} del proceso de la absorción de la galactosa por el intestino de pollo in vivo (fig. 1).

Tabla I. Absorción de galactosa 2,77 mM por el intestino de pollo in vivo. Constancia de la absorción en períodos sucesivos de 10 minutos de duración. Valores medios con su error estándar.

Galactosa mM	Absorciones sucesivas ($\mu\text{M}/\text{cm}$)					
	1.ª Abs	2.ª Abs	3.ª Abs	4.ª Abs	5.ª Abs	6.ª Abs
(10) 2,77	0,30±0,01	0,31±0,01	0,31±0,01	0,30±0,01	0,30±0,01	0,30±0,01
(6) 5,54	0,50±0,01	0,49±0,01	0,48±0,03	0,49±0,01	0,49±0,01	0,49±0,01
(6) 11,08	0,82±0,02	0,81±0,03	0,80±0,02	0,81±0,02	0,81±0,02	0,81±0,02
(6) 22,16	1,14±0,02	1,14±0,01	1,14±0,01	1,14±0,01	1,12±0,02	1,13±0,02

obteniéndose valores para la $V_{\max}$ de $2 \mu\text{M}$ galactosa/cm intestino/10 min. y para la K_m aparente de $15,83 \text{ mM}$.

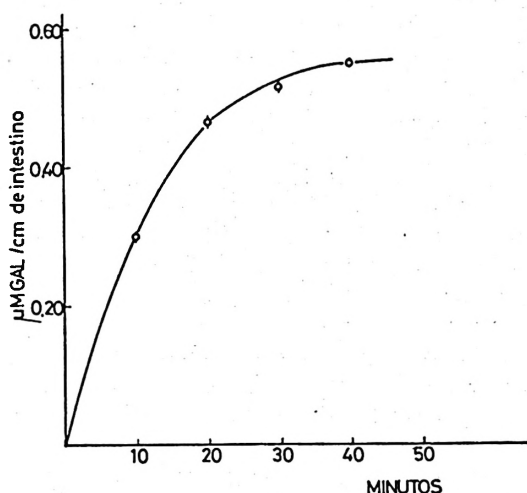


Fig. 2. Influencia del tiempo de absorción sobre el transporte activo de galactosa $2,77 \text{ mM}$ in vivo por intestino delgado de pollo. En ordenadas se expresa el azúcar absorbido en $\mu\text{M/cm}$ de intestino y en abscisas el tiempo de absorción. Cada punto indica el valor medio de 10 experimentos.

Influencia del tiempo sobre la absorción. Se ha estudiado la velocidad de absorción de la galactosa $2,77 \text{ mM}$ en distintos períodos de tiempo. Se trató de conseguir así, y con fines cinéticos, que el tiempo de cada experiencia fuera mínimo, a condición de que lo absorbido fuera suficiente para su correcta determinación frente a lo residual.

Nuestros resultados muestran cómo un aumento en el tiempo de la experiencia da lugar a un incremento en la cantidad absorbida, hasta alcanzar la saturación a los 40 minutos aproximadamente. La curva presenta la máxima pendiente a los 10 minutos (fig. 2).

Influencia de la presión de repleción. La presión de repleción en la técnica de absorciones sucesivas (25) se mide por el desnivel que queda entre el asa intestinal que perfunde y la altura a la que queda la solución a absorber en la tubuladura de entrada.

Se ha operado con presiones de 6 y 12 centímetros de agua a las que corresponden capacidades de asa de 1 y 2 ml, respectivamente, como consecuencia del distinto grado de distensión intestinal.

Se observa cómo la cantidad de galactosa ($2,77 \text{ mM}$) absorbida aumenta al ser mayor la presión de repleción (tabla II).

Estudio de la zona de máxima absorción. El tramo intestinal comprendido entre el final del duodeno y el comienzo del grueso se dividió en tres partes, estudiando en cada una de ellas la absorción de galactosa durante cuatro absorciones sucesivas (fig. 3). Existe una máxima absorción en la parte del intestino delgado que corresponde a la zona donde se encuentra el resto de la inserción del vitelo. Los valores descienden en los tramos distal y proximal, siendo mínima la absorción en la zona más cercana al duodeno.

Tabla II. Influencia de la presión de repleción sobre la absorción intestinal in vivo de galactosa $2,77 \text{ mM}$ por el intestino de pollo.

Tiempo de cada período de absorción, 10 minutos. Valores medios con su error estándar.

N.º Animales	Presión de repleción de agua cm	Absorciones sucesivas ($\mu\text{M/cm}$)			
		1.ª Abs	2.ª Abs	3.ª Abs	4.ª Abs
10	6	$0,30 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,01$
7	12	$0,40 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,01$	$0,41 \pm 0,01$

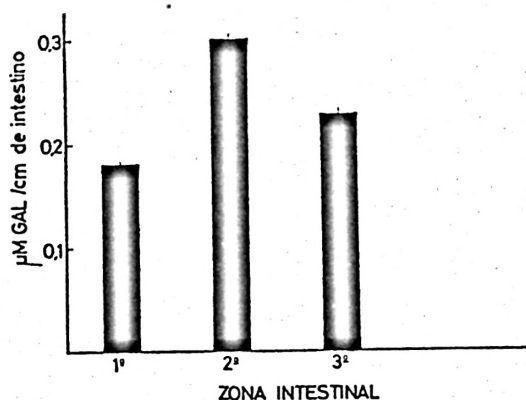


Fig. 3. Influencia de la zona intestinal sobre el transporte activo de galactosa 2,77 mM *in vivo* en pollo.

En ordenadas se expresa el azúcar absorbido en $\mu\text{M}/\text{cm}$ de intestino en 10 min. Número de experimentos por grupo, 10.

Influencia de la edad. Dada la labilidad que presenta la pared intestinal de pollos recién nacidos, es conveniente utilizar animales de más de una semana de edad. Se han estudiado las posibles variaciones en la absorción de galactosa en pollos de dos a cuatro semanas. Las diferencias obtenidas no han sido estadísticamente significativas.

Discusión

La absorción intestinal *in vivo* se estudia usando técnicas que, previa anestesia del animal y canulación de una o más asas intestinales, se perfunde la solución-problema con ayuda de un gas (23), de bombas peristálticas (14) o por la presión hidrostática del líquido a absorber (22). Entre estas últimas, una de las más ampliamente utilizadas es la de SOLS y PONZ (26), con pequeñas variantes.

En pollos, sin embargo, la mayoría de los estudios de la absorción *in vivo* se han realizado siguiendo la técnica de CORI (12) que fue adaptada a esta especie en 1942 por GOLDEN (13). Utilizando dicho método, BOGNER estudió la selecti-

vidad en la absorción de distintos azúcares, así como otros problemas relacionados con este proceso (4, 5, 6).

En el presente trabajo se ha investigado, en pollo, la aplicación de la técnica de absorciones sucesivas para el estudio del transporte de galactosa a concentraciones de 2,77 a 22,16 mM encontrándose constancia por lo menos a lo largo de seis pruebas sucesivas de 10 minutos cada una. Por otra parte, la velocidad de absorción es también muy rápida. El estudio de la K_m aparente dio un valor de 15,83 mM inferior al hallado en rata con la misma técnica (18) y superior al obtenido *in vitro* en hamster (7) y pollo (19).

La capacidad de absorción de una sustancia a lo largo del intestino puede variar notablemente. BOOTH (9) indica el nivel de máxima absorción de diversas sustancias en el tramo intestinal. Frente a lo indicado por ALVAREZ (2), SMYTH subrayó hace años (24) que la glucosa se absorbe por el intestino de rata a mayor velocidad en su parte media que en las porciones proximal y distal del intestino delgado. También en pollo se encuentra una máxima absorción en su porción central, con una diferencia más acusada respecto a los extremos que la encontrada en rata, dato que está de acuerdo con los resultados de SCHARRER obtenidos también en pollo (20). La presión de repleción es un factor que debe tenerse en cuenta en la realización de esta técnica, siendo necesario mantenerla constante a lo largo de todas las experiencias comparativas, puesto que su variación provoca distensiones o relajaciones del asa que a su vez dan lugar a múltiples variaciones de volumen, motilidad, circulación, etc., que influye notablemente en la absorción de las sustancias (27).

BOGNER (3) ha estudiado el momento de la aparición del mecanismo del transporte activo de azúcares por el intestino de pollo, el cual llega a ser completo a los tres días después de la eclosión. Dada la influencia de la edad sobre la velocidad

de la absorción tanto *in vivo* (4) como *in vitro* (1), se ha estudiado la capacidad para el transporte activo de galactosa en pollos de dos a cuatro semanas de edad, no encontrando en nuestro caso diferencias significativas en la absorción.

Agradecimiento

Agradecemos a D. Angel Remón Sanzol el suministro de animales para la realización de este trabajo.

Resumen

Se estudia la aplicación de la técnica de SOLS y PONZ de absorciones sucesivas al intestino de pollo, así como las condiciones experimentales óptimas para llevarla a cabo. Los resultados muestran que existe una gran constancia en la absorción, a lo largo de 6 periodos sucesivos de 10 minutos cada uno. Un estudio cinético del proceso ha dado valores para la K_m de 15,83 mM y para la $V_{máx}$ de 2 μ M/gal/cm intestino en 10 min.

Se obtienen los mejores resultados cuando se utilizan asas preparadas a partir de la porción media del intestino delgado y se opera a una presión de repleción de 6 cm de agua. No se han encontrado diferencias significativas en la velocidad del transporte activo al emplear pollos de edad comprendida entre 2 y 4 semanas.

Bibliografía

1. ALVARADO, F. y MONREAL, J.: *Comp. Biochim. Physiol.*, **20**, 471-488, 1967.
2. ALVAREZ, J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **40**, 432, 1939.
3. BOGNER, P. H.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **107**, 263-265, 1961.
4. BOGNER, P. H. y HAINES, I. A.: *Anat. Rec.*, **137**, 342-344, 1960.
5. BOGNER, P. H. y HAINES, I. A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **107**, 265-267, 1961.
6. BOGNER, P. H. y HAINES, I. A.: *Am. J. Physiol.*, **207**, 37-41, 1964.
7. BOLUFER, J., LARRALDE, J. y PONZ, F.: *Pflügers Arch.*, **338**, 159-167, 1973.
8. BOLUFER, J., LASHERAS, B. y LARRALDE, J.: *XI Cong. Internat. Soc. Farmac. Mediterráneo Latino*. Málaga, 1974.
9. BOOTH, C. C., KANAGHINIS, T. y STEWARD, J. S.: En «Surgical Physiology of Gastrointestinal Tract». Royal College of Surgeons of Edinburgh. Edinburgh, 1962, página 152.
10. BURRILL, P. y LERNER, J.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **42**, 437-443, 1972.
11. CIVIDANES, I., BELLO, J. y LARRALDE, J.: *Rev. esp. Fisiol.*, **19**, 139-148, 196.
12. CORI, C. F.: *J. Biol. Chem.*, **66**, 691-712, 1925.
13. GOLDEN, W. R. C. y LONG, C. H.: *Am. J. Physiol.*, **136**, 244-249, 1942.
14. JACOBS, F. A. y LUPER, M.: *J. Appl. Physiol.*, **11**, 136, 1957.
15. LARRALDE, J. y GIRALDEZ, A.: *Rev. esp. Fisiol.*, **15**, 1-12, 1959.
16. LARRALDE, J., GIRALDEZ, A. y LLUCH, M.: *Rev. esp. Fisiol.*, **24**, 215-218, 1968.
17. MAINGUET, P., DURET, R. L., THYS, C., FRANCKSON, J. R. M., CONRAD, V. y BASTENIE, P. A.: *Acta Gastroenterol.*, **29**, 261-270, 1966.
18. PARSONS, P.: En «Handbook of Physiology», sección 6, Vol. 3, Am. Physiol. Soc. Washington D.C. 1968, pág. 1277.
19. RUANO, M. J.: Tesis Doctoral. Universidad de Navarra. Pamplona, 1974.
20. SCHARRER, E.: *Arch. f. Geflügelkunde*, **35**, 21-25, 1971.
21. SCHARRER, E.: *Z. Tierphysiol. Tierernährg. Futtermittelk.*, **30**, 268-274, 1972.
22. SMYTH, D. H.: *Meth. Med. Res.*, **9**, 260-273, 1961.
23. SMYTH, D. H., JERVIS, M. L., JOHNSON, F. R. y SHEFF, M. F.: *J. Physiol.*, **34**, 675, 1956.
24. SMYTH, D. H. y TAYLOR, C. B.: *J. Physiol.*, **136**, 632-648, 1957.
25. SOLS, A. y PONZ, F.: *Rev. esp. Fisiol.*, **3**, 207-211, 1947.
26. SOMOGYI, M.: *J. Biol. Chem.*, **195**, 19-24, 1952.
27. VIDAL-SIVILLA, S., SOLS, A. y PONZ, F.: *Rev. esp. Fisiol.*, **6**, 195-205, 1950.

