

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

DETERMINACIÓ DE PARÀMETRES ELÈCTRICS

A L'INTESTÍ DE RATA I DE POLLASTRE

Memòria presentada per
Na Concepció Amat i Miralles per
optar al Grau de Llicenciatura.
Aquest treball ha sigut dirigit
pel Dr. Miquel Moretó i Pedragosa,
Professor Titular de Fisiologia
Animal, i pel Dr. Antoni Diez i
Noguera, Professor Ajudant de
Clases Pràctiques, d'aquesta
Facultat.

Barcelona, Juny de 1985

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0701738978



LABORATORIO DE FISILOGIA ANIMAL
FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE BARCELONA
BARCELONA-28
(ESPAÑA)

En MIQUEL MORETÓ I PEDRAGOSA, Professor Titular de Fisiologia Animal i N'ANTONI DIEZ I NOGUERA, Professor Ajudant de Classes Pràctiques, de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona,

INFORMEN: Que la memòria titulada "DETERMINACIÓ DE PARÀMETRES ELÈCTRICS A L'INTESTÍ DE RATA I DE POLLASTRE" presentada per Na CONCEPCIÓ AMAT I MIRALLES per optar al Grau de Llicenciat en Farmàcia, ha estat realitzada sota la nostra direcció al Departament de Fisiologia Animal d'aquesta Facultat i, considerada conclosa, autoritzem la seva presentació per a ser jutjada pel Tribunal corresponent.

I perquè consti, signem la present a Barcelona, el vint de juny de mil nou-cents vuitanta-cinc.

Dr. Miquel Moretó

Dr. Antoni Diez

El meu sincer agraïment:

Al Dr. Miquel Moretó i al Dr. Antoni Diez per la seva dedicació i ajuda en la direcció d'aquesta tesina, i per haver-me transmès la il·lusió per fer-la.

Al Professor Dr. Antonio Torralba, Catedràtic de Fisiologia Animal, per haver posat a la meva disposició tots els mitjans necessaris per elaborar aquest treball.

A la Dra. Susanna Buxaderes, del Departament de Bromatologia, Toxicologia i Anàlisi Química (1a càtedra), d'aquesta Facultat, per la seva ajuda en l'anàlisi del pinso.

A la Dra. Joana M. Planas, Na Ruth Ferrer i totes les companyes del grup de transport intestinal pel seu bon humor, ànims i consells donats.

A tots els companys del Departament pel seu acolliment i bones estones passades.

A n'en Xavier per la seva comprensió en tot moment i per la seva col·laboració en la impressió d'aquest treball.

A l'Alexandre, Angelina, Gerard,
Laia, Laura i Oriol.

INDEX

	pàgina
1. <u>OBJECTE E INTERÈS DEL TREBALL</u>	1
2. <u>INTRODUCCIÓ TEÒRICA</u>	3
2.1. <u>MORFOLOGIA DEL BUDELL</u>	4
2.1.1. <u>Anatomia i funcions del còlon</u> <u>de rata</u>	4
2.1.2. <u>Anatomia i funcions del budell</u> <u>gruixut de pollastre</u>	13
2.2. <u>TRANSPORT A TRAVÉS DE MEMBRANES</u>	19
2.2.1. <u>Mecanismes de transport a través de</u> <u>membranes</u>	20
2.2.1.1. Mecanismes passius	21
2.2.1.2. Mecanismes actius	30
2.2.2. <u>Diferència de potencial en els</u> <u>epitelis</u>	35
2.2.2.1. Diferència de potencial transmural (Dpt)	37
2.2.2.2. Intensitat del corrent de curt- circuit (Icc)	38
2.2.3. <u>Transport de ions a l'epiteli</u> <u>intestinal</u>	41
2.2.3.1. Transport de ions al budell prim ...	41
2.2.3.2. Transport de ions al còlon de mamífers	46
2.2.3.3. Transport de ions al còlon de les aus	53
2.2.4. <u>Valors de la Dpt i Icc mesurats</u> <u>en el budell de diferents espècies animals</u> ..	55

3. <u>MATERIALS I MÈTODES</u>	57
3.1. REACTIUS I SUBSTÀNCIES EMPRADES	58
3.2. APARELLS	61
3.3. MEDIS D'INCUBACIÓ. AIREACIÓ DELS MEDIS. SOLUCIONS DE DIFERENTS REACTIUS	62
3.4. ANIMALS D'EXPERIMENTACIÓ	67
3.5. DESCRIPCIÓ DEL MUNTATGE	70
3.5.1. <u>Cambres</u>	70
3.5.2. <u>Mesura de la Dpt</u>	72
3.5.2.1. Electrodes de calomelans	74
3.5.2.2. Ponts d'agar-KCl	76
3.5.3. <u>Tècnica descrita per Ussing per a la determinació de la Icc</u>	77
3.5.3.1. Electrodes de Ag/AgCl	77
3.5.3.2. Ponts d'agar-Ringer	79
3.5.3.3. Descripció del circuit compensador de la Dpt	80
3.5.4. <u>Muntatge general</u>	82
3.6. OBTENCIÓ, PREPARACIÓ I MUNTATGE DEL TEIXIT .	85
3.6.1. <u>Anestesia de l'animal</u>	85
3.6.2. <u>Extracció i neteja del tros de budell a estudiar</u>	85
3.6.3. <u>Aïllament de la mucosa</u>	87
3.6.4. <u>Muntatge del teixit en les cambres</u> ...	87
3.7. DETERMINACIÓ QUANTITATIVA DELS IONS SODI I POTASI DE LA DIETA	90
3.8. CÀLCULS	93
3.8.1. <u>Càlcul de la superfície de teixit exposada</u>	93
3.8.2. <u>Càlcul de la Resistència del teixit a partir de la llei d'Ohm</u>	93
3.9. TRACTAMENT ESTADÍSTIC DE LES DADES	95

4. <u>RESULTATS</u>	101
4.1. PARÀMETRES ELÈCTRICS AL CÒLON DE RATA	102
4.1.1. <u>Descripció del model inicial</u>	108
4.1.2. <u>Descripció del model final</u>	113
4.1.2.1. Variació de la Dpt en funció del temps	118
4.1.2.2. Efecte de la temperatura del medi sobre la Dpt	119
4.1.2.3. Importància del temps de muntatge ..	125
4.1.2.4. Importància de la presència de substrats metabolitzables en el manteniment de la Dpt	126
4.1.2.5. Diferències en la Dpt de la zona proximal i la distal del còlon	128
4.1.3. <u>Dpt al teixit sencer i a la mucosa aïllada del còlon</u>	140
4.1.4. <u>Dpt, Icc i R al còlon sencer</u>	140
4.2. PARÀMETRES ELÈCTRICS A L'ILI, CEC I RECTE DE POLLASTRE	147
4.2.1. <u>Dpt a l'ili, cec i recte de pollastre</u>	163
4.2.1.1. Efecte del temps, del temps de muntatge, de la temperatura i de l'edat	164
4.2.1.2. Diferències en la Dpt segons la zona del budell estudiada i segons el tipus de preparació	173
4.2.1.3. Efecte de la dieta sobre la Dpt	177
4.2.1.4. Efecte de la supressió del ió sodi del medi d'incubació	180
4.2.1.5. Efecte del tractament amb ouabaïna o amb amiloride	182
4.2.1.6. Efecte del tritó, de la leucina i de l'àcid β -hidròxibutíric	183
4.2.1.7. Model lineal per l'ili	183
4.2.1.8. Model lineal pel cec	185
4.2.1.9. Model lineal pel recte	185

4.2.2. <u>Icc a l'ili, cec i recte de pollastre</u>	186
4.2.2.1. Efecte del temps i de la dieta	186
4.2.2.2. Efecte de la temperatura i de l'edat	188
4.2.2.3. Efecte de la zona del budell i del tipus de preparació	191
4.2.2.4. Presència d'àcid β -hidròxibutíric en el medi d'incubació	191
4.2.2.5. Efecte de treure el ió sodi del medi d'incubació	193
4.2.2.6. Efecte de la ouabaïna i de l'amiloride	193
4.2.2.7. Particularitats de les diferents zones en quan a comportament de la Icc	193
4.2.3. <u>R a l'ili, cec i recte de pollastre</u> ..	194
5. <u>DISCUSSIÓ</u>	198
5.1. CÒLON DE RATA	199
5.2. ILI, CEC I RECTE DE POLLASTRE	203
6. <u>CONCLUSIONS</u>	210
7. <u>BIBLIOGRAFIA</u>	213

Tipus de quantitats i unitats S.I. bàsiques (B), derivades (D), derivades
coherents (DC) i derivades no coherents (DnC) utilitzades en el text.

Nom quantitat Nom unitat S.I. Símbol

Longitud (B)	metre (B)	m
Àrea (D)	metre quadrat (DC)	m ²
Volum (D)	litre (DnC)	l
Pes (D)	quilogram (D)	kg
Quantitat de substància (B)	mol (B)	mol
Concentració de massa (D)	quilogram per litre (DnC)	kg/l
Concentració de substància (D)	moles per litre (DnC)	mol/l
Temperatura Celsius (D)	grau Celsius (D)	°C
Temps (B)	segon (B)	s
	minut (DnC)	min
	hora (DnC)	h
Corrent elèctric (B)	amper	A
Potencial elèctric (D)	volt	V
Resistència (D)	ohm	Ω *

(*) Per facilitar l'escritura del mecanoscrit s'utilitza ohm en lloc de Ω

Prefixes utilitzats

Factor Prefix Símbol

10^3	quilo	K
10^{-2}	centi	c
10^{-3}	mili	m
10^{-6}	micro	μ *

(*) Per facilitar l'escriptura del mecanoscrit s'utilitza u en lloc de μ .

1. OBJECTE I INTERÈS DEL TREBALL

L'objecte d'aquest treball ha sigut el determinar els paràmetres elèctrics d'alguns segments intestinals de la rata i del pollastre. Amb aquest fi s'ha posat a punt en aquest laboratori la tècnica per a la mesura de la diferència de potencial transmural (Dpt) i de la intensitat del corrent de curt-circuit (Icc), en cambres anàlogues a les descrites per Ussing.

Un altre aspecte innovador ha sigut el tractament dels resultats que, per primera vegada dins la línia de transport intestinal d'aquest laboratori, s'ha fet mitjançant l'aplicació del mètode estadístic dels models lineals.

Els estudis dels paràmetres elèctrics intestinals s'han fet en dues fases. En la primera es van realitzar principalment mesures de Dpt, ja que es van necessitar uns mesos pel disseny, construcció i comprovació del circuit compensador de la Dpt, necessari per a la mesura de la Icc. Per aquests estudis previs es va escollir el còlon de rata per raons pràctiques, ja que aquest segment intestinal és fàcil de manipular i a més, les seves propietats elèctriques són prou conegudes. Per la segona fase, amb la tècnica suficientment experimentada a la rata, s'han fet estudis en diversos segments intestinals del pollastre.

A més de l'aportació metodològica, l'interès del treball rau en la caracterització de l'ili, cec i recte de pollastre, pel que fa a les seves propietats elèctriques. La informació que d'aquí es treu és de gran importància des del punt de vista fisiològic ja que obra el camí per a futurs estudis sobre el transport de ions en els esmentats segments intestinals.

2. INTRODUCCIO TEÓRICA

2.1. MORFOLOGIA I FUNCIONS DEL BUDELL GRUIXUT

En els animals superiors el budell gruixut és un òrgan molt versàtil que intervé en el manteniment del balanç de fluids, com a lloc potencial per a l'absorció de nutrients, com a magatzem temporal de les excretes i com a hàbitat de multitud de microorganismes i patògens potencials (Phillips i Devroede, 1979).

La funcionalitat d'aquest òrgan és deguda a la morfologia que presenta, i és per aquesta raó per la que hi han petites variacions en les funcions del còlon de diferents espècies animals, com a conseqüència de diferències en la morfologia.

Es consideraran doncs, per separat, les característiques morfològiques i funcionals dels segments de budell de les diferents espècies emprades en aquest treball.

2.1.1. Anatomia i funcions del còlon de rata

El budell gruixut és la porció del tub digestiu compresa entre el final de l'ili i l'anús. Aquesta part de l'aparell digestiu consta de varies zones diferenciades.

En primer lloc es té el cec. És una estructura en forma d'ampolla corba situada dintre la fosa ilíaca dreta i que ve tot seguit de l'ili. Té forma arronyonada i consta de diferents parts: l'ampolla de cecí, a on hi entra l'ili, és una estructura dilatada que gradualment es va fent estreta, passant al corpus cecí i finalment a l'àpex que és una estructura cega (Snipes, 1981).

En el cec i una mica per sota del lloc on desemboca l'ili, hi ha la sortida del còlon. El còlon ascendent va cap amunt passant per sobre la nança ascendent del duodè, fins

al marge inferior de l'estómac, baixant aleshores per la regió lumbar esquerra dintre la fosa ilíaca i acabant en el recte (Dumas, 1953). En la figura 1 pot observar-se un esquema general del budell gruixut de la rata.

La paret del budell gruixut està formada per varies capes diferenciades histològicament, que del lúmen a l'interior són:

1. La mucosa que, a diferència del complicat relleu que presenta la del budell prim, està desprovista de vellositats. Està formada per una sèrie d'elevacions papil·loses mucosals en el centre de les quals s'enfonsa una cripta similar a les que conté el budell prim (figura 2). Aquestes estructures estan formades per multitud de cèl·lules de diferents tipus de les que les més abundants són els enteròcits i les cèl·lules caliciformes (Wheather i col., 1979). Formant part d'aquesta capa també hi ha la làmina propria formada per teixit connectiu que conté cèl·lules amb funció immunològica. Finalment hi ha la muscularis mucosae que és una fina capa muscular relacionada probablement amb funcions de motilitat (Trier i Madara, 1981).

2. La submucosa amb fibres de col·làgen. Conté el plexe nerviós de Meissner.

3. Una capa muscular formada per una capa de múscul circular interna i una capa de múscul longitudinal externa. Entre les dues capes hi ha el plexe mientèric o d'Auerbach.

4. La serosa.

La funció principal del còlon és la conservació de sal i aigua, i la principal propietat de l'epiteli d'aquest òrgan és l'habilitat per absorbir activament ió sodi. El

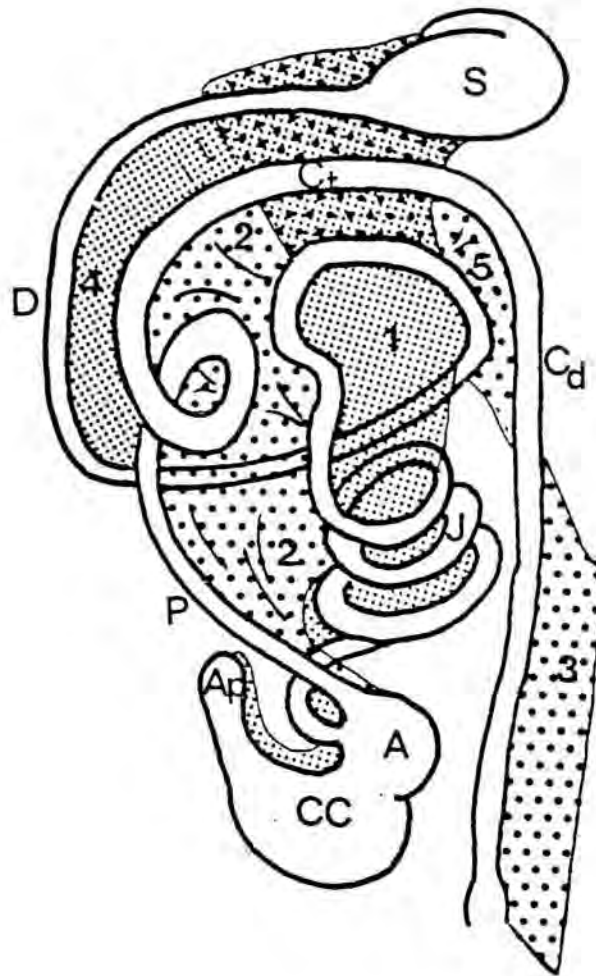


FIGURA 1: Representació esquemàtica de l'abdòmen de rata
 S: estómac. D: duodè. J: jejú i ili. A: ampol·la de cecí. CC: corpus cecí. Ap: apex cecí (apèndix). P: còlon proximal. C: còlon transversal. Cd: còlon descendent. 1: mesenteri de l'intestí prim. 2. Extensió del mesenteri del còlon ascendent al còlon transversal. 3: mesenteri del còlon descendent. 4: connexió mesentèrica del duodè al còlon proximal (ascendent). 5: connexió de la porció distal del duodè amb el còlon descendent.
 (Snipes, 1981)

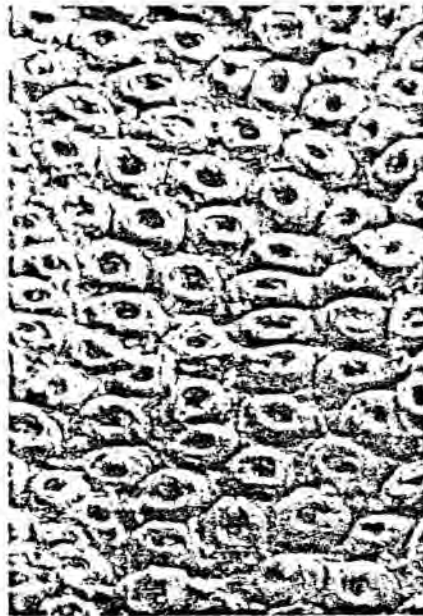


FIGURA 2: Relleu de la mucosa del budell gruixut de la rata.
(Specht, 1977)



90-95% de l'aigua i del ió sodi que entren al còlon és reabsorbit. Així es conserva el medi fluid on han tingut lloc els processos de digestió i absorció en la part proximal del budell. El còlon té a més una capacitat de reserva per absorbir aigua i ió sodi en cas de que n'hi arribi molta quantitat degut a alguna disfunció.

Ordinàriament, la major part del ió sodi i de l'aigua és absorbida en el còlon ascendent. En el còlon descendent la concentració de ió sodi és molt inferior, el que fa que l'absorció d'aquest ió tingui lloc en contra del seu gradient de concentració (Edmonds i Pilcher, 1972).

Les cèl.lules responsables d'aquesta funció són els enteròcits. Aquestes cèl.lules presenten una assimetria imprescindible per la seva funcionalitat. Pel costat que dóna a la llum del budell tenen la superfície de la membrana plena de innumbrables projeccions en forma de petites barres, anomenades microvilli. Cada microvilli conté en el seu interior uns filaments molt fins que s'extenen cap al citoplasma formant finalment una xarxa filamentosa. Aquests filaments contribueixen a la mobilitat dels microvilli. El conjunt de tota la banda apical de la cèl.lula forma un orgànul contràctil amb funcions d'absorció. La membrana de les microvellositats té un recobriment d'hidrats de carboni, més gruixut que el de la majoria de les cèl.lules, anomenat glicocàlix. Aquest recobriment està format per fibres molt fines que surten de la part protèica de la membrana cel.lular (Moog, 1982). Aquests filaments estan especialment ben desenvolupats en la regió terminal dels microvilli. El glicocàlix és el lloc més important per a la digestió terminal de substàncies (Specht, 1977).

Un aspecte morfològic molt important del còlon, en relació a la funció en la homeostasi, és el tipus d'unió que hi ha entre les cèl.lules. L'espai paracel.lular entre els costats laterals de les cèl.lules epitelials contigues és

força ampla, però en canvi per l'extrem apical estan unides entre elles fermement. Els complexos d'unió consisteixen en tres parts: zónula ocludens que és la unió forta més apical, zónula adherens o unió intermitja, i màcula adherens o desmosoma basal. L'epiteli del còlon es considera que és de tipus mitjanament estret, intermedi entre l'epiteli de la bufeta urinària (estret) i el del budell prim (lax). Gràcies a aquesta característica, la permeabilitat de les unions intercel.lulars al pas de ions i aigua és relativament baixa possibilitant l'absorció activa de ions i el manteniment de diferents concentracions de ions a ambdós costats de l'epiteli, així com d'una diferència de potencial.

En la figura 3 pot veure's un esquema d'un enteròcit i del glicocàlix així com de les unions intercel.lulars.

L'epiteli del còlon també conté cèl.lules secretores de moc, amb una funció lubricant i protectora important doncs cal tenir en compte que al còlon hi arriban els productes finals de la digestió i actua en certa manera com a magatzem. Aquest moc també té propietats de neteja i antibacterianes. Hi han dos tipus de cèl.lules amb aquesta funció: les cèl.lules caliciformes que es troben sobretot en la superfície i les cèl.lules vacuolades que es troben en la part més baixa de les criptes. Les darreres són específiques del budell gruixut. En la figura 4 pot observar-se una cripta del còlon d'un ratolí amb els diferents tipus de cèl.lules que conté.

Encara que no sigui un òrgan d'absorció de nutrients, el còlon contribueix una mica a la conservació de carboni i nitrògen. Pot absorbir àcids grassos de cadena llarga, aminoàcids i algunes vitamines, sobretot en casos on hi ha alguna disfunció en altres zones. També s'observa una funció secretora de fluids.

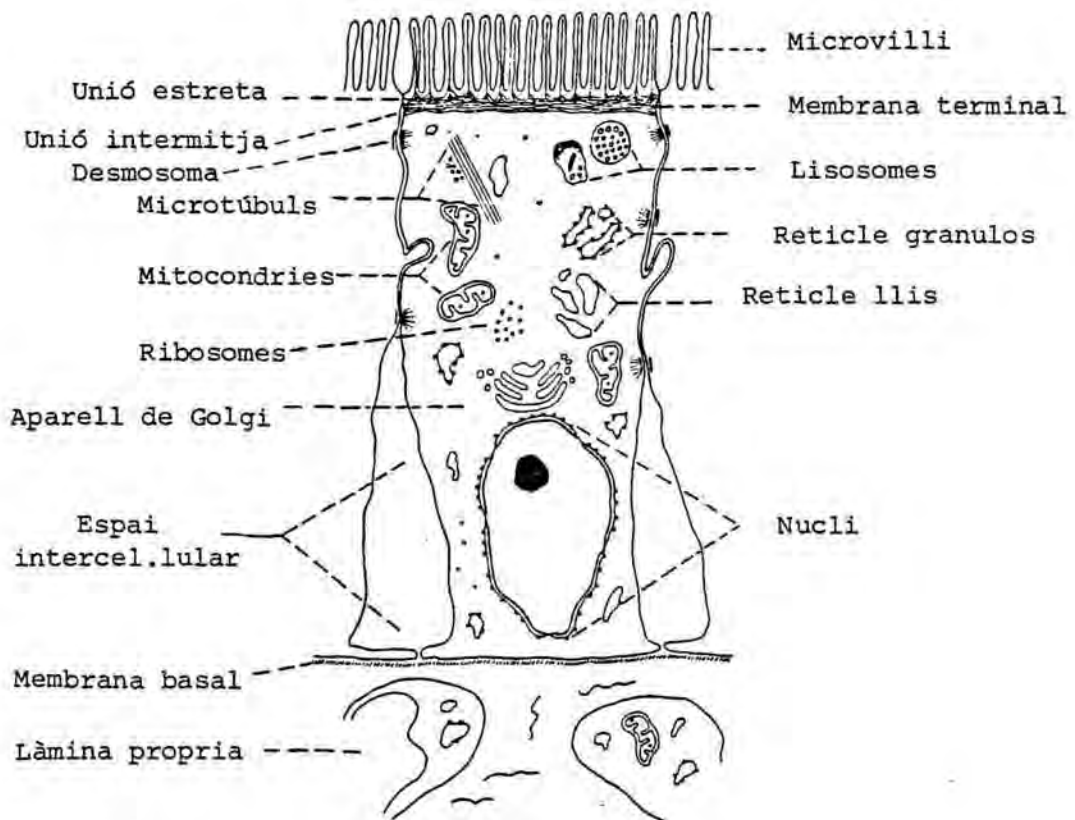
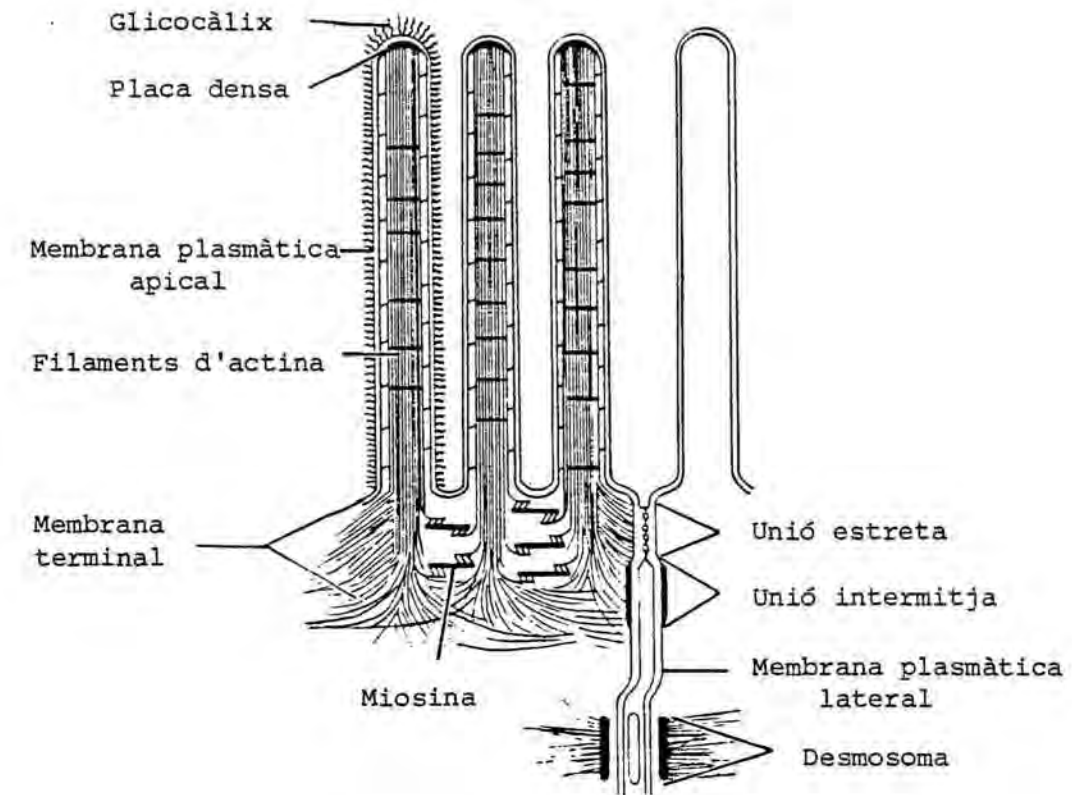


FIGURA 3: Esquema d'un enteròcit, del glicocàlix i de les unions intercel.lulars.
 (Trier i Madara, 1981)

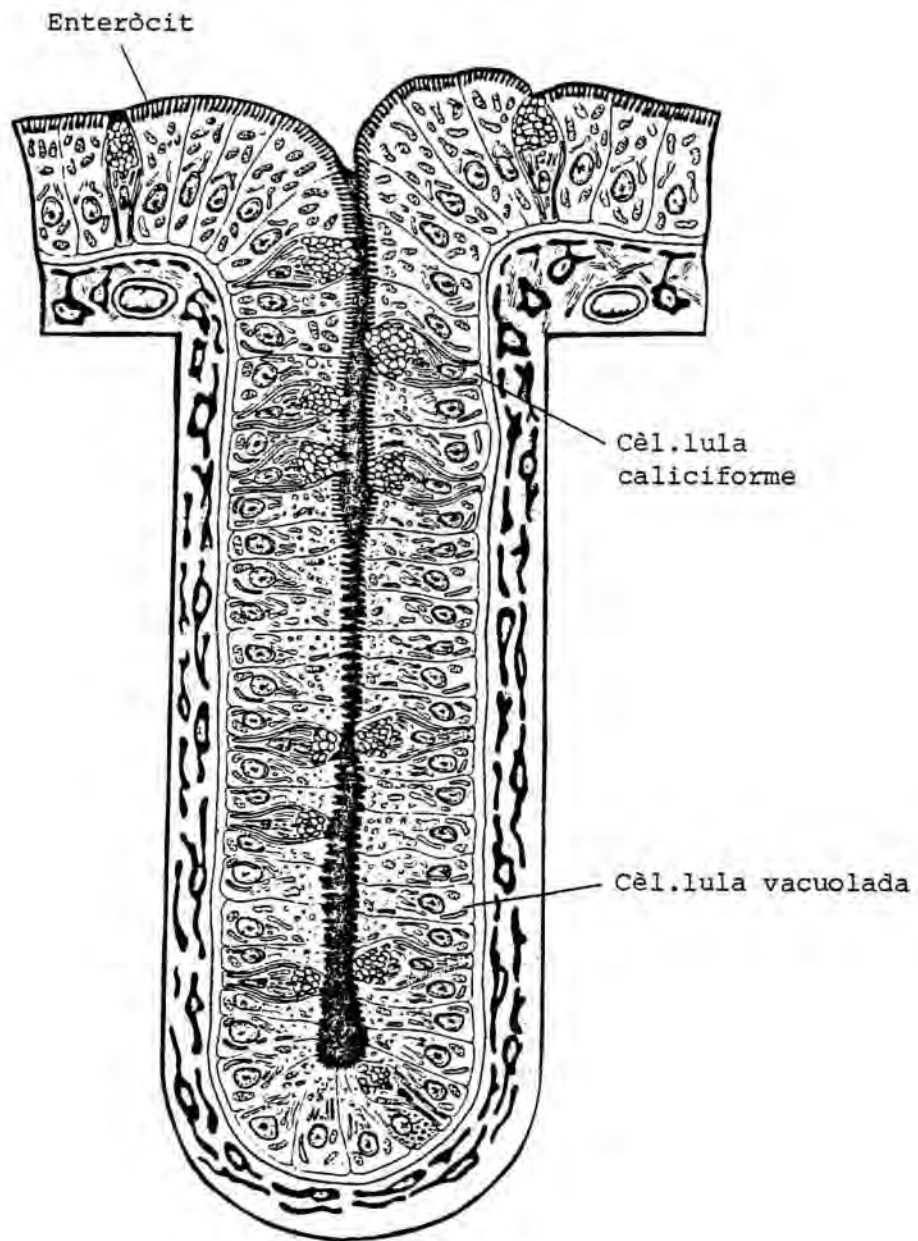


FIGURA 4: Esquema d'una cripta de la mucosa del còlon de rata.
(Specht, 1977)

El còlon conté molts microorganismes, majoritàriament anaerobis. Els enzims bacterians són importants en la salut i en la malaltia doncs participen en el metabolisme dels substrats endògens i de la dieta, i en el metabolisme de les drogues. A més, els metabòlits intermedis de la degradació bacteriana d'àcids grassos i d'àcids biliars tenen efectes importants sobre la funció d'absorció del còlon.

Aquest epiteli també conté dos tipus de cèl.lules amb funció defensiva:

1. Cèl.lules en borla. Es caracteritzen per tenir els microvilli més gruixuts i llargs que els dels enteròcits, formant una massa que es projecta cap al lumen. Aquestes cèl.lules formen part del mecanisme de defensa de la mucosa intervenint en el procés de secreció de les Immunoglobulines A, sintetitzades per altres cèl.lules.

2. Cèl.lules amb microplegaments. Aquestes estan associades a cèl.lules limfoidees les quals es troben dintre les primeres separades del lumen per una fina capa de material citoplasmàtic. Les cèl.lules limfoidees entren en contacte amb partícules de menjar i antígens bacterians. Tenen una importància immunològica així com també una importància en la permeabilitat intestinal (Specht, 1977).

El còlon també actua com a magatzem temporal de les excretes i té capacitat per prevenir una propulsió massa ràpida d'aquestes facilitant la reabsorció dels fluids que provenen de l'ili. El còlon també condueix el material cap al recte de forma que el budell distal pugui programar la defecació de forma convenient i eficient (Phillips i Devroede, 1979).

2.1.2. Anatomia i funcions del budell gruixut de pollastre

En les aus, es considera budell gruixut a la zona del tracte digestiu compresa entre el final de l'ili i el coprodeum. Comprèn els cecs i el còlon (també anomenat per alguns autors recte). Els cecs estan situats en la unió de l'ili amb el còlon i en el cas del pollastre n'hi han dos força llargs (uns 15 cm cada un, en l'adult). A l'entrada dels cecs hi han les vàlvules musculars ileocecal. La resta del budell gruixut és relativament curta i, contràriament al que passa en els mamífers, no hi ha diferenciació entre còlon i recte, per el que es considera com un sol segment. El còlon es buida en el coprodeum. En la figura 5 es pot veure un esquema del tracte digestiu del pollastre amb la disposició del budell gruixut (Sturkie, 1967).

L'estructura de la paret del budell del pollastre és essencialment la mateixa en les diferents zones. Hodges (1974) descriu les capes del budell, que de fora (cavitat peritoneal) a dintre (llum del budell) són:

1. Capa serosa. Epiteli escamós sota la qual hi ha una fina capa de teixit connectiu amb fibres elàstiques que conté vasos sanguinis i nervis associats formant el mesenteri.
2. Una capa muscular externa de múscul longitudinal i una altra més interna de múscul circular. Entre les dues hi ha una petita capa de teixit connectiu que conté fibres elàstiques, vasos sanguinis i un plexe nerviós corresponent al plexe d'Auerbach dels mamífers.
3. La submucosa, molt prima. El plexe nerviós que conté correspon al plexe de Meissner.

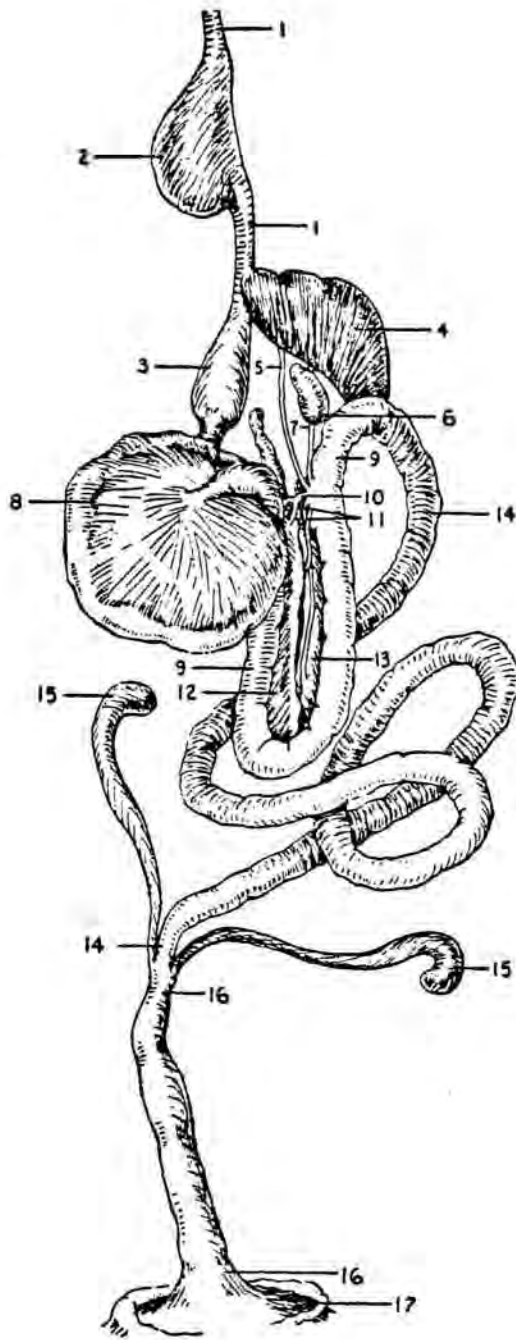


FIGURA 5: Representació esquemàtica del tracte digestiu del pollastre. 1 i 2: esòfag i pap. 3: proventricle. 4: fetge. 5. conducte hepàtic. 6: vesícula biliar. 7: conducte cístic. 8: pedrer. 9: duodè. 10 i 11: conductes pancreàtics. 12 i 13: lòbuls del pàncreas. 14: budell prim. 15: cecs. 16: recte. 17: coprodeum. (Sturkie, 1967)

4. La muscularis mucosae està poc desenvolupada en les aus. Consisteix en fibres musculars longitudinals a lo llarg de tot el budell, excepte en els cecs a on n'hi han dues capes, una externa longitudinal i una interna de múscul circular o oblicu.

5. La mucosa intestinal està formada per un elevat nombre de villi en forma de fulles ordenades en zig-zag. Les criptes de Lieberkühn ocupen la major part de la làmina propria que es troba entre la base dels villi i la muscularis mucosae. La làmina propria està formada per teixit connectiu i conté vasos limfàtics, sanguinis, nervis, fibres musculars i acúmuls de cèl.lules limfoidees.

Les cèl.lules que formen la mucosa intestinal en el pollastre són bàsicament de tres tipus:

1. Els enteròcits, similars als de la rata vistos a l'apartat anterior.

2. Les cèl.lules en forma de copa, o caliciformes. Tenen la part que dóna a la llum plena de material secretor. Aquestes cèl.lules són més freqüents en les criptes que en els costats dels villi.

3. Les cèl.lules enterocromafins. Es troben a la base de la cripta i més rarament en els villi. Tenen forma piramidal, sent més estretes en la zona de l'âpex, de forma que sembla que gairebé no estiguin en contacte amb la llum del budell. En el citoplasma tenen grànuls fortament eosinòfils que probablement contenen 5-hidroxitriptamina.

Els diferents tipus de cèl.lules són produïts en la base de les criptes per mitosi, i gradualment migren cap a

la part superior. Aquest procés també té lloc a l'epiteli intestinal dels mamífers.

Les diferents parts del budell gruixut del pollastre tenen petites diferències estructurals interessants d'assenyalar:

Els cecs formen un parell de conductes que s'acaben sense continuació, que en el seu origen són més estrets que el budell prim però que van incrementant el seu gruix gradualment. El gruix de la paret del cec varia inversament amb el diàmetre en aquell punt; en la part proximal és gruixuda i es va tornant més prima a mida que s'avanca.

El cec proximal té una estructura similar a la descrita pel budell en general. Es caracteritza per tenir unes criptes de Lieberkuhn molt curtes i per tenir abundants cèl.lules i nòduls limfoides en la làmina pròpia, tant en la base com dintre els villi. La mucosa d'aquesta zona també conté un gran nombre de cèl.lules caliciformes.

El cec medial normalment està distendit i té les parets primes. La submucosa és prima però va formant uns plecs, fent-se aleshores més ampla. Aquests plecs arriben fins a la superfície interna. Els villi són molt curts i arrodonits.

El cec distal s'assembla força al medial. La submucosa conté també aquells plecs però no tant ben desenvolupats. Els villi són encara més curts i amples, probablement degut a la distensió d'aquesta zona. La proporció de cèl.lules caliciformes disminueix a mida que es passa del cec proximal al distal. En les dues terceres parts distals del cec hi ha abundància de teixit limfoide que tendeix a degenerar en teixit escleròtic. Segons Lim i Low (1977) en la zona terminal del cec hi ha absència total de villi.

El còlon del pollastre té la paret gruixuda quan no està distendit. La disposició de la mucosa depèn del grau de distensió del budell. Així, quan està totalment distendit, la majoria dels villi estan aplanats i la resta són curts, amples i arrodonits, i les criptes de Lieberkühn tenen una profunditat considerablement menor. Quan el budell no es troba distendit poden observar-se els villi amb la típica forma de fulla.

La làmina propria conté moltes cèl.lules limfoidees i petits nòduls limfàtics, excepte en els animals molt joves. Presenten un elevat nombre de cèl.lules secretores de moc.

En quan a les unions intercel.lulars i al tipus d'epiteli en referència a aquesta característica, no hi ha diferències importants respecte al còlon de mamífers.

A les funcions generals del budell gruixut anomenades a l'inici del capítol es poden afegir certs aspectes relacionats amb l'epiteli del cec i del recte de pollastre.

El còlon de les aus té un paper important en la regulació del balanç de ió sodi i aigua de l'organisme. Rice i Skadhauge (1982) establiren que el còlon és el principal lloc de recuperació final de les substàncies contingudes en el quim i en l'orina. Més endavant es farà referència a la capacitat d'adaptació que tenen aquests animals al diferent contingut de ió sodi de la dieta, variant consegüentment el nivell d'absorció d'aigua i d'electròlits.

Els fluids continguts en els cecs poden provenir de l'ili o bé del còlon per moviment retrògrad. En aquest últim cas, el que arriba és orina uretral modificada. El contingut del cec és sempre líquid. Una part important de l'aigua que surt del budell prim s'absorbeix en els cecs i això sugereix

un paper d'aquesta part del budell en la conservació de l'aigua.

El paper predominant dels cecs és la producció d'àcids grassos volàtils per fermentació microbiana. En ells s'observa una elevada concentració d'aquests àcids grassos, principalment acetat i propionat. En els cecs es troba una quantitat molt elevada de microorganismes, que a més utilitzen àcid úric. D'aquesta manera l'àcid úric urinari que arriba als cecs pot aprofitar-se, sent això útil en el cas de dietes pobres. Alguns autors han suggerit que una altra funció important dels cecs és el metabolisme de la fibra vegetal. Aquesta zona del budell té també capacitat per absorbir ions com el ió sodi i el clorur (Skadhauge, 1981).

2.2. TRANSPORT A TRAVÉS DE MEMBRANES

Una propietat característica de les cèl.lules vives és la seva habilitat per mantenir substàncies a una concentració diferent a la del medi que les envolta. Aquesta capacitat es basa en l'existència de mecanismes de transport de ions i de no electròlits localitzats a la membrana cel.lular. Si es considera l'epiteli intestinal, les conseqüències dels processos de transport són les següents:

- Manteniment de la composició intracel.lular.
- Generació de potencials elèctrics com a resultat de la separació activa dels ions sodi i potasi.
- Manteniment d'una concentració constant de substàncies que no són produïdes o consumides dintre la cèl.lula.
- Transferència de substàncies a nivell transmural, resultant un moviment de matèria d'una part del cos a una altre. Aquesta funció implica un moviment asimètric de les partícules a través de la paret cel.lular.

Aquest pas a través de la membrana pot tenir lloc de varies maneres diferents depenent de les característiques de la substància que passa. Així es té:

- Pas directe. En el cas de substàncies lipídiques amb un coeficient de partició lípid/aigua elevat, que fàcilment poden establir concentracions força elevades en la membrana, la qual cosa es tradueix en uns gradients de concentració intramembrana elevats i uns fluxos també elevats.

En el cas de substàncies no lipídiques, el pas directe té lloc quan es combinen amb molècules de la

membrana que poden moure's lliurement dintre de la mateixa, poguent fer de guia de la partícula d'un costat a l'altre. Aquesta molècula actua com a transportador. Aquest tipus de difusió s'anomena difusió facilitada o bé transport mitjançat equilibratiu. En alguns casos, l'entrada de substàncies està acoblada a l'entrada del ió sodi, i això reb el nom de cotransport. Quan el cotransport permet acumular un compost dins la cèl.lula en contra del seu gradient electroquímic, aleshores es parla d'un mecanisme de transport actiu o bé de transport mitjançat concentratiu.

- Pas a través de porus. A través d'aquestes estructures poden passar les partícules de mida suficientment petita. En moltes membranes biològiques és aquesta la principal forma de pas per a les partícules petites insolubles en lípids.

- Pinocitosi. És un procés adaptat principalment al transport de partícules grans.

2.2.1. Mecanismes de transport a través de membranes

Per fer una descripció completa de l'intercanvi a través de membranes, caldria trobar una equació que predigués el flux de les partícules com una funció de la diferència de concentració, del potencial elèctric de membrana, de la força d'arrossegament pel solvent, de la força del transport actiu, etc. Però la fisicoquímica del transport de membrana no està suficientment desenvolupada com per establir aquesta relació. Aleshores, cal fer estudis parcials considerant separatament alguns d'aquests factors.

2.2.1.1. Mecanismes passius

La proporció amb la que una substància passa a través d'una membrana de forma passiva (flux net expressat en mol/cm s), depèn del balanç entre dos factors:

1. Facilitat amb la que una partícula passa a través de la membrana (permeabilitat o conductància): determina quantes partícules travessen la membrana per segon, per una força de conducció donada.

2. Magnitud de les forces responsables del moviment: el gradient de concentració de la substància a través de la membrana (el gradient mig de concentració és: concentració externa - concentració interna / gruix de la membrana), i el potencial elèctric o gradient de voltatge a través de la membrana que tendeix a conduir cations cap a dins de la cèl.lula i anions cap a fora, doncs a través de la membrana cel.lular hi ha una diferència de potencial de tal forma que l'interior és negatiu respecte l'exterior.

Quan les úniques forces que influeixen sobre el flux net són el gradient elèctric i el gradient de concentració, i aquestes forces poden combinar-se de forma lineal, és a dir, poden sumar-se, aleshores el pas a través de la membrana s'anomena passiu simple.

Anem a considerar seguidament la difusió passiva d'una substància iònica 'i' per una membrana cel.lular en l'estat estacionari (és un estat de no equilibri on les concentracions i voltatges no varien amb el temps doncs el flux de ions a través de la membrana és constant en les dues direccions), i la relació entre el flux d'aquest ió i la diferència de potencial elèctric derivada d'aquest transport.

La permeabilitat (P) és la constant de proporcionalitat que relaciona el flux unidireccional (J) de la substància (i) a través de la membrana amb la concentració (c) d'aquesta substància en un costat de la mateixa.

Les partícules contingudes en un fluid es troben en constant moviment. El nombre de partícules que travessa la membrana per unitat d'àrea en un moment donat és directament proporcional al nombre de vegades que aquestes partícules colisionen amb la membrana, i això a la vegada és proporcional al nombre de partícules del solut aprop de la membrana, és a dir, de la seva concentració.

Si la membrana separa dues solucions 'o' i 'i' del solut a una concentració c_o i c_i , respectivament, es tindrà:

$$J_{o,i} = P c_o$$

$$J_{i,o} = P c_i$$

$$J_{net} = P (c_o - c_i)$$

La permeabilitat també depèn, inversament, del gruix de la membrana. Es té així la relació $P = \bar{D}/x_o$, on \bar{D} és el coeficient de difusió mig de la membrana i x_o és el gruix. El coeficient de difusió es refereix a la barrera energètica que ha de superar la substància per travessar la membrana, per tant depèn de la temperatura així com de la seva estructura. Combinant les dues equacions es té:

$$J_{net} = \bar{D}/x_o (c_o - c_i) \quad (\text{llei de Fick})$$

Donat que $c_o - c_i / x$ és el gradient de la substància 'i' a través de la membrana, es pot expressar la mateixa equació com:

$$J_{net} = \bar{D} \text{grad } (i)$$

La mucosa intestinal és un òrgan que permet una distribució ràpida del material per difusió ja que té les característiques necessaries perquè així sigui doncs el gruix de l'epiteli és petit i l'àrea exposada és gran.

En l'epiteli intestinal hi ha un potencial elèctric al seu través que influeix en el moviment passiu de les partícules. Aquest fet trenca la simetria del moviment característica de l'agitació tèrmica de les partícules, establint una direcció preferent de transport.

Si es considera un sistema on la membrana separa dues solucions d'igual concentració (c) d'una substància iònica 'i', però amb una diferència de potencial entre ambdós costats de la membrana ($V_o - V_i$), el flux de les partícules de 'o' a 'i' ve donat per:

$$J_{net} = zmc(V_o - V_i)$$

z : nombre de càrreges elèctriques de 'i'

m : permeabilitat elèctrica de la membrana

El factor m , depèn del gruix de la membrana: $m = \eta / \Delta x$, on η representa el valor d'una propietat inherent a l'estructura molecular de la membrana que depèn de l'energia donada a les partícules per la diferència de potencial i de la barrera energètica imposada per l'estructura de la pròpia membrana.

A temperatura constant, la relació entre η i D és constant

$$\eta / D = F / RT$$

- F : Faraday
- T : Temperatura absoluta
- R : constant dels gasos que expresa l'energia tèrmica per grau de temperatura

per tant, $n_i = FD_i/RT$

Amb el subíndex 'i' s'indica que s'està tractant el flux de la substància 'i'.

$$J_{net} = z_i \frac{\eta}{\Delta x} c(V_o - V_i) = -z_i \frac{FD}{RT} c \left(\frac{\delta V}{\delta x} \right)$$

Considerant que el gruix de la membrana és infinitament petit, $-\delta V/\delta x$ és el gradient elèctric ($grad \epsilon$).

Les forces passives que actuen sobre els ions són els gradients de concentració i els gradients elèctrics. En el cas de la substància iònica 'i' que es considera, el flux total per difusió passiva sera: (Brown, 1974)

$$-J_i = D_i grad (i) + z_i \frac{FD}{RT} (i) grad \epsilon$$

Aquesta és l'expressió de l'equació de Nernst-Planck.

L'equació de Nernst-Planck es pot expressar d'altres maneres. Aquí s'ha escollit l'expressió descrita per Schultz (1980) per que s'ajusta millor als objectius d'aquest treball. Per transformar l'equació anterior s'han seguit les següents passes:

- a) Treure factor comú $D_i z_i F/RT$

$$-J_i = \frac{D_i z_i F}{RT} \left[\frac{RT}{F z_i} \text{grad } (i) + (i) \text{ grad } \varepsilon \right]$$

b) Expressar grad (i) com dc_i/dx , grad ε com $d\psi/dx$ i (i) com c_i .

$$-J_i = \frac{D_i z_i F}{RT} \left[\frac{RT}{F z_i} \frac{dc_i}{dx} + c_i \frac{d\psi}{dx} \right]$$

c) Treure c_i factor comú i canviar de signe

$$J_i = - \frac{D_i z_i F c_i}{RT} \left[\frac{RT}{F z_i c_i} \frac{dc_i}{dx} + \frac{d\psi}{dx} \right]$$

d) Considerar que $dc_i/c_i = d \log c_i$ i expressar-ho com $d \ln c_i$, incloent la constant per la que s'ha de multiplicar per passar d'un tipus de logaritme a l'altre dintre les constants fora del parèntesi

$$J_i = - \frac{D_i z_i F c_i}{RT} \left[\frac{RT}{F z_i} \frac{d \ln c_i}{dx} + \frac{d\psi}{dx} \right]$$

e) Tenir en compte que $FD_i/RT = \eta$ (mobilitat de un mol de 'i' en la membrana). La mobilitat d'un sol ió 'i' vindrà expressada per $u = \eta/F = D_i/RT$ (és la relació de Einstein). Aleshores, substituint s'arriba a la segona expressió de l'equació de Nernst-Plank, tal com la descriu Schultz (1980):

$$J_i = -u_i c_i z_i F \frac{RT}{z_i F} \frac{d \ln c_i}{dx} + \frac{d\psi}{dx}$$

A on:

$$z_i F \frac{RT \, d \ln c_i}{dx} + \frac{d\psi}{dx} \quad \text{és el gradient de potencial electroquímic } (d\mu_i/dx)$$

- J_i : flux net del ió 'i'
 u_i : mobilitat del ió 'i'
 c_i : concentració mitja de 'i' a l'interior de la membrana
 z_i : càrrega iònica de 'i'
 F : constant de Faraday
 R : constant dels gasos perfectes
 T : temperatura absoluta
 dc_i/dx : gradient de concentració
 $d\eta/dx$: gradient elèctric
 x : gruix de la membrana

Aplicacions d'aquesta equació són:

1. El desenvolupament d'un criteri d'equilibri passiu. Si les mesures experimentals encaixen dintre l'equació de Nernst-Planck i a l'estat d'equilibri el flux net de partícules és zero, aleshores es pot afirmar que només intervenen forces elèctriques i de difusió. Si les mesures experimentals no fan que l'equació es compleixi vol dir que hi ha una força addicional que actua sobre el transport d'aquest solut. Per tant, l'equació de Nernst-Planck pot emprar-se per determinar la necessitat d'altres forces de membrana apart de la difusió passiva i la migració elèctrica que expliquin els resultats experimentals.

2. La predicció del potencial de membrana. En general, haurien de determinar-se les relacions entre les forces i els fluxos per a tots els ions presents. Però quan domina el flux d'una sola espècie iònica sobre l'intercanvi de membrana, aleshores el potencial de membrana s'acosta al que

prediu la relació de Nernst-Plank per aquella espècie iònica.

El corrent que resulta del flux per difusió passiva donat per l'equació de Nernst-Plank ve donat per l'expressió:

$$I_i = z_i F J_i$$

Substituint J_i per $I_i/z_i F$ queda:

$$\frac{I_i}{z_i F} = -u_i c_i z_i F \left[\frac{RT}{z_i F} \frac{d \ln c_i}{dx} + \frac{d\psi}{dx} \right]$$

Fins aquí s'ha considerat sempre una membrana infinitament estreta (dx). Si ara es considera tot el gruix de la membrana, és a dir, si s'integra aquesta equació, es podrà arribar a una expressió pel corrent que es crea a ambdós costats de la membrana de la cèl.lula. S'assumeix que aquest corrent és constant en tots els punts de la membrana.

$$I_i \int_0^i \frac{dx}{z_i^2 F^2 u_i c_i} = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_i^0}{c_i^i} - \Delta\psi$$

A on:

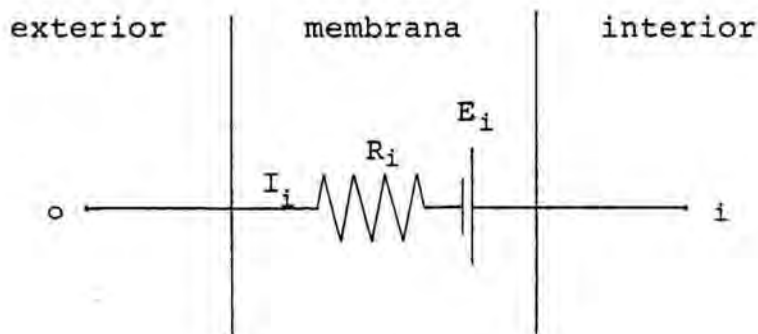
$$\int_0^i \frac{dx}{z_i^2 F^2 u_i c_i} \text{ és la resistència de la membrana al ió 'i'}$$

i

$$\frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_i^0}{c_i^i} \text{ és la força electromotriu de 'i' (E}_i\text{)}$$

Per tant: $I_i R_i = E_i - \Delta\psi$

Aquesta és l'expressió de la llei de Ohm, i en general és una equació que relaciona fluxos i forces. També indica que l'equació de Nernst-Plank pel flux d'un ió conduit per la diferència de potencial electroquímic pot ser representada per un corrent I que flueix a través d'una resistència R connectada en serie amb una bateria E_i .



Es veu clarament una correspondència entre processos de transport i circuits elèctrics ja que es pot establir una equivalència entre corrents i fluxos, resistències i permeabilitats i entre forces electromotrius i diferències de concentració.

Aquest punt de vista electrofisiològic presenta un avantatge important sobre l'aproximació cinètica: hi ha una millor tecnologia per mesurar corrents elèctrics que no per mesurar concentracions. D'aquesta manera poden fer-se mesures molt més sensibles i obtenir resultats més fiables.

Si es considera que la mobilitat del ió és igual en tots els punts i també que la concentració a ambdós costats de la membrana és igual, aleshores també és vàlida l'expressió de R :

$$R_i = \frac{\Delta x}{u_i z_i^2 F^2 c_i}$$

La inversa d'aquesta relació defineix la conductància G. És a dir, $G = 1/R$.

Es veu doncs que la resistència elèctrica de la membrana al ió 'i' està directament relacionada amb el gruix de la membrana i inversament relacionada amb el contingut de 'i' per unitat d'àrea.

En el cas general en que a ambdós costats de la membrana no hi ha la mateixa concentració de 'i', aleshores la relació entre intensitat del corrent i diferència de potencial no és lineal. Per tant, la resistència al pas del ió 'i' depèn de la diferència de potencial que hi ha.

Donat que a través de la membrana cel.lular hi ha el pas de més d'un ió, cal considerar-los tots plegats. Si es considera que hi han fluxos paral.lels de 'n' ions a través d'una membrana, aleshores:

$$IR_m = E - \Delta\psi$$

$I = \sum_1^n I_i$, corrent total a través de la membrana

R_m : Resistència total de la membrana

E: força electromotriu total a través de la membrana. $E = \sum_1^n t_i E_i$, sent t_i la relació entre la conductància del ió 'i' (G_i) i la conductància total de la membrana (G_m)

En el cas de que el flux sigui només de difusió, $I = 0$
Aleshores:

$$E = \Delta\psi = \frac{RT}{F} \sum_1^n \frac{t_i}{z_i} \ln \frac{c_i^o}{c_i^i}$$

Per tant, E és la diferència de potencial elèctric a la que ha de ser sotmesa la membrana per abolir el flux de corrent generat per la difusió.

L'expressió de la força electromotriu global pot ésser generalitzada per incloure els possibles efectes de les forces de conducció no conjugades. Així, qualsevol procés que pugui generar un flux contribuirà a E. És el cas del flux del solvent, del flux d'un altre solut que generarà un potencial de cotransport, o bé del flux produït per una reacció metabòlica que generarà un potencial de transport actiu. En general es tindrà:

$$E = - \frac{RT}{F} \sum_i \frac{t_i}{z_i} \ln \frac{c_i}{c_i^0} + \frac{1}{G_m} \sum_i z_i F (i - \sigma_i) c_i J_i +$$

⏟
⏟

potencial de difusió potencial de flux del solvent

$$+ \frac{1}{G_m} \sum_i z_i F v_i J_j + \frac{1}{G_m} \sum_i z_i F a_i J_i + \dots$$

⏟
⏟

potencial de cotransport potencial de transport actiu

(Brown, 1974; Schultz, 1980; Gordon i Woodbury, 1966)

2.2.1.2. Mecanismes actius

Fins ara, s'ha considerat el mecanisme del moviment de soluts, que no necessita energia. En aquest tipus de moviment el sistema tendeix a assolir el valor de mínima energia. Una vegada s'ha arribat a aquest estat, les concentracions i l'energia lliure ja no varien i els fluxos nets de totes les substàncies són zero.

És evident que els éssers vius són sistemes que es mantenen en un estat diferent del d'equilibri, i això no es pot explicar exclusivament per processos basats en el moviment passiu de substàncies. L'estat de no equilibri es manté gràcies a l'aport d'energia lliure que es va dissipant espontàniament. La font d'aquesta energia és el metabolisme bioquímic dels substrats energètics.

Aquest fenomen ja fa temps que es coneix. Reid, el 1892, va observar pas net de fluids a través de pell viva de granota. Francis, el 1933, va comprovar que la pell curt-circuitada produïa energia elèctrica. Més tard van tenir lloc dos esdeveniments que han sigut molt importants pel posterior coneixement dels processos d'aquest tipus de transport. Així, el 1939, Katzin va ser el primer a emprar ions marcats radioactivament per a mesurar la permeabilitat iònica de la pell aïllada de granota i, el 1951, Ussing i Zerahn van mesurar fluxos de ions a través de la pell de granota amb la tècnica d'isòtops radioactius. Així van poder comparar el flux net de càrrega amb el corrent que es produïa a través del teixit. Posteriorment, el 1953, Linderholm va fer mesures elèctriques directes per determinar la conductància de la pell (Huf, 1979).

Les cèl.lules utilitzen dos mecanismes per mantenir substàncies en un estat de no equilibri als dos costats de la membrana:

1. Utilització de l'energia dels substrats per fer possible les reaccions bioquímiques dintre la cèl.lula.
2. Acoblament de l'energia metabòlica al transport a través de la membrana (transport actiu de membrana). Amb aquest tipus de transport, l'energia química és convertida en energia elèctrica produint-se un flux d'electrons en una direcció. Aquesta energia tendeix a incrementar l'energia lliure de la substància mentre

aquesta passa d'una banda a l'altre de la cèl.lula. La font d'aquesta energia està localitzada dintre la membrana. En conjunt, es pot dir que una força activa produeix una transferència de l'energia provinent de reaccions bioquímiques a les partícules susceptibles de moviment a través de la membrana. Un mecanisme d'aquest tipus és necessari per a que sigui possible el moviment d'una substància en contra del seu gradient d'activitat electroquímica.

A través d'una membrana poden existir simultàniament mecanismes de transport actiu, de pas passiu lligat indirectament al transport actiu, i de moviment passiu no lligat a cap transport actiu. És el cas dels processos de transport a través de la membrana de l'enteròcit o el del moviment de ió sodi i altres ions en la membrana de l'axó de les neurones, per posar dos exemples representatius.

Les característiques generals del transport actiu són les següents: (Brown, 1974)

1. Dependència de substrats metabòlics.

L'energia que mou substàncies a través de la membrana per mecanismes de transport actiu prové de l'energia química lliure cedida pels substrats orgànics, com per exemple la glucosa. La major part dels processos de transport actiu són aerobis, per tant cal oxigen. Si manca substrat o oxigen el transport actiu es pararà (en canvi el transport passiu es mantindrà intacte).

A l'intestí es veu clarament aquesta dependència. Normalment els capilars de la mucosa proporcionen l'oxigen necessari, però si es fan preparacions 'in vitro', cal perfundir amb una solució saturada d'oxigen per mantenir el transport actiu. Es per això que en tots els experiments 'in vitro' es fa borbotejar oxigen continuament (o bé una

barreja amb elevada proporció d'aquest gas). Normalment també s'afegeix glucosa al medi d'incubació perquè hi hagi el suficient aport d'un substrat metabolitzable (Lyngdorf-Henriksen i col., 1978; Thomas i col., 1980; Rice i Skadhauge, 1982; Schultz i Zalusky, 1964; Edmonds i Marriott, 1968; Chosniak i col., 1977; Holtug i Skadhauge, 1982; Binder i Rawlins, 1973).

2. Sensibilitat als verins metabòlics.

El transport actiu és molt susceptible als agents que inhibeixen les reaccions metabòliques, com per exemple el dinitrofenol i la ouabaïna. El dinitrofenol actua desacoblant l'utilització del substrat en la fosforilació oxidativa amb ello que es té menys energia pel transport actiu. Edmonds i Marriott (1968) han comprovat aquest efecte en el còlon de rata. La ouabaïna inhibeix la bomba de Na/K, i per això té també un efecte inhibitor del transport actiu en el budell de diferents espècies (Bolaños i Lorenzo, 1984; Bolaños i col., 1984; Edmonds i Marriott, 1968).

3. Habilitat per mantenir diferències de concentració havent-hi gradients passius.

La diferència de concentració a la que s'arriba a ambdós costats de la membrana és una mesura de les magnituds relatives de forces actives i passives.

4. Habilitat per mantenir un flux en absència de gradients passius.

5. Saturació.

En el cas de la difusió passiva simple, el flux unidireccional augmenta en proporció directa a la concentració. En un sistema de transport actiu hi haurà la

limitació de l'energia, és a dir, es transportarà d'acord amb la quantitat d'energia disponible. Quan la concentració de la substància a transportar sigui baixa, la limitació per l'energia no serà important, però a concentracions superiors la seva influència augmenta significativament, i aleshores aquest mecanisme pot saturar-se.

El nivell del transport actiu en un teixit no és necessàriament constant, sino que normalment varia per adequar-se a les condicions que necessita tot l'organisme. Així per exemple, el nivell d'absorció de les substàncies ingerides depèn de l'activitat del sistema nervios autònom.

Hi han alguns mecanismes de control del transport actiu recolzats per l'evidència experimental: (Brown, 1984)

1. Control directe químic i hormonal.

Es coneix força bé el control exercit per l'aldosterona en el nivell d'absorció d'electròlits en el budell. Autors com Thomas i col. (1980) ho han estudiat àmpliament en el budell gruixut del pollastre. Ja s'ha esmentat mé amunt l'efecte de substàncies químiques com els glucòsids cardiotònics.

2. Control a través de la permeabilitat passiva.

Quan una substància es mou a través d'un epiteli que té la bomba pel transport actiu en un dels seus cantons (com per exemple el cas de l'epiteli intestinal on la bomba de Na/K es troba a la membrana basolateral), pot haver un control del flux de la substància transportada variant la permeabilitat passiva per aquesta substància de la membrana de l'altre cantó de l'epiteli.

3. Control circulatori.

Aquest control es fa a dos nivells: aportant l'oxigen necessari per a la producció d'energia metabòlica i reduint l'acumulació local del material transportat.

4. Control intracel.lular.

Té lloc per retroalimentació negativa referida a la concentració intracel.lular del compost que ha d'ésser transportat, encara que aquests mecanismes no són ben coneguts.

Es veu clarament que el mecanisme de transport actiu no obeeix simplement a certes lleis fisico-químiques com és el cas de la difusió passiva on, per exemple, és relativament fàcil deduir la diferència de potencial a través d'una membrana coneixent una sèrie de dades. Aquí hi ha una complexitat important i són molts els factors que poden influir en els resultats que s'obtenen. Es per això que no hi han fórmules que serveixin per fer prediccions sobre el valor d'un determinat paràmetre, donades una sèrie de dades referents a les condicions d'un experiment. Aquí l'electrofisiologia també és útil però d'una forma indirecta, com es veurà més endavant.

2.2.2. Diferència de potencial en els epitelis

El fluid intersticial conté concentracions elevades de ió sodi i clorur i baixes de ió potasi. En canvi, el fluid intracel.lular conté molt ió potasi i pocs ions sodi i clorur. A més hi ha una diferència de potencial a través de la membrana cel.lular de tal forma que l'interior de la cèl.lula és negatiu. L'existència d'una diferència de potencial significa que hi han càrregues separades per una membrana en un nombre proporcional al voltatge. Per tant,

la cèl.lula es comporta com un condensador; els fluids intersticials i intracel.lulars són solucions d'electròlits i per tant conductors iònics; i la membrana que els separa és un aïllant. Els ions poden penetrar per la membrana de forma limitada. Per tant, el manteniment d'aquesta separació de càrregues i de la diferència de potencial implica que hi ha alguna força diferent al gradient de voltatge i al de concentració. Aquesta força és el transport actiu que treu ió sodi de la cèl.lula (Woodbury, 1966).

Sembla ser que aquest transport de ió sodi ve mediatitzat per transportadors que es troben en la membrana. El transportador es combinaria espontàniament amb el ió formant un complex, i aquest es difondria a través de la membrana. La dissociació d'aquest complex tindria lloc gràcies a l'energia alliberada en una reacció acoblada que inclouria la hidròlisi d'ATP. La sortida de ió sodi va acompanyada per una entrada acoblada de potasi.

Si l'intercanvi de ions produït per la bomba és de tipus no electrogènic (per cada ió sodi que surt entra un potasi), es generen gradients de concentració d'aquests ions a través de la membrana però per ell mateix no es separen càrregues. Les càrregues es separen per la difusió posterior d'aquests ions. Així, la membrana és 50 vegades més permeable al potasi que al ió sodi, aleshores el potasi surt de la cèl.lula 50 vegades més que el ió sodi i això genera una diferència en el nombre de càrregues a ambdós costats de la membrana, és a dir, una diferència de potencial de forma que la cara externa és positiva respecte la cara interna. El voltatge produït fa que el clorur surti de la cèl.lula, encara que no arriba a anul·lar la diferència de potencial. El resultat net és que hi ha una sortida de ió sodi i clorur i una acumulació de ió potasi (Woodbury, 1966).

També hi han cèl.lules on la bomba de Na/K és electrogènica (per cada ió potasi que entra, surt més d'un ió sodi). Per ella mateixa es genera una diferència de potencial. És el cas de la bomba de la membrana basolateral dels enteròcits.

2.2.2.1. Diferència de potencial transmural (Dpt)

En els epitelis polaritzats, com és el cas de l'epiteli intestinal, s'observa una Dpt que és deguda al transport de ions d'un costat a l'altre del teixit. Això és possible gràcies a que les cèl.lules que formen aquest epiteli estan soldades entre elles per unions estretes, i aleshores el pas de substàncies per la via paracel.lular és petit. A més, les propietats funcionals de la membrana d'una cèl.lula epitelial són diferents, en alguns aspectes, en el costat mucosal i serosal. Aquesta assimetria és important en el transport actiu.

S'ha demostrat el transport actiu de ions d'un costat a l'altre de l'epiteli en molts teixits epitelials. La major part dels treballs inicials es van fer en pell de granota. Més tard es va estudiar l'epiteli intestinal. En ambdós casos es va observar un pas actiu de ió sodi important així com moviments d'altres ions d'un costat a l'altre del teixit (Eckert i Randall, 1978).

Segons el model general de Koefoed-Johnsen i Ussing, el mecanisme de l'absorció activa de ió sodi per aquests epitelis és el següent: (Wills, 1984)

1. Entrada passiva del ió sodi a través de la membrana apical a favor del gradient electroquímic. En el cas dels enteròcits, la concentració de ió sodi intracel.lular és baixa respecte la llum del budell. A més, l'interior de la cèl.lula és elèctricament negatiu respecte l'exterior.

2. Sortida de ió sodi per la part serosal per la bomba de Na/K de la membrana basolateral en contra del gradient químic i elèctric.

Una característica molt important d'aquest model és que les dues membranes són diferents en quan a permeabilitat selectiva. El caràcter electrogènic del transport de ió sodi seria degut a que la membrana apical és conductiva únicament pel ió sodi. Per altra banda, la membrana basolateral seria més conductiva pel potasi i aleshores el gradient de potasi a través d'aquesta membrana es mantindria gràcies a un intercanvi actiu electroneutre de ió sodi i potasi.

2.2.2.2. Intensitat del corrent de curt-circuit (I_{cc})

La correlació entre el transport actiu de ió sodi i el corrent elèctric la van fer Ussing i Zerahn el 1951. Van pensar que si el ió sodi és transportat activament a través de l'epiteli, ha d'haver-hi un acord entre el nombre de ions ió sodi transportats per unitat de superfície i per segon i la intensitat del corrent.

Per eliminar el gradient elèctric que feia que hi hagués un flux passiu de clorur cap a la banda interna, fent variar una mica la Dpt, van neutralitzar la diferència de càrrega (per tant la diferència de potencial transmural) aplicant un corrent extern del mateix valor, igual a la diferència de potencial transmural però de sentit contrari al que hi havia. D'aquesta manera:

- el transport actiu de ió sodi no està dificultat per cap mena de força elèctrica, no hi han fluxos passius.
- el corrent que passa pel circuit extern és el resultat dels processos de transport actiu i pot comparar-se amb

la suma de ions ió sodi transportats pel teixit. A la intensitat d'aquest corrent la van anomenar intensitat del corrent de curt-circuit (I_{cc}).

Van trobar que aquesta intensitat està d'acord amb el transport net de ió sodi mesurat amb isòtops en la pell de granota. Schultz i Zalusky (1964) també obtingueren els mateixos resultats en ili de conill. D'això es dedueix que la major part del corrent de curt-circuit és degut al transport net de ió sodi en el sentit mucosal-serosal en absència d'un gradient electroquímic. Per tant, el transport de ió sodi és la principal font de la Dpt i de la I_{cc} .

Ussing i Zerahn (1951) van posar a punt aquesta tècnica, molt útil per l'estudi del transport de ions, en particular del ió sodi, en els epitelis. Amb aquesta tècnica el corrent que es troba en condicions de curt-circuit és igual a la transferència neta de càrrega, i aleshores en un sol experiment pot determinar-se la sortida de ió sodi (amb un isòtop) i l'entrada de ió sodi (I_{cc} + sortida de ió sodi).

Es poden fer algunes consideracions teòriques desde un punt de vista electrofisiològic en referència al corrent de curt-circuit.

Es pot considerar el pas de ions a través de l'epiteli intestinal com si d'una sola membrana es tractés, ignorant els processos que tenen lloc a l'interior de la cèl.lula i fixant l'atenció només en la Dpt i en la diferència de concentracions iòniques. Suposem que hi han dos ions que travessen aquest epiteli, un catió 'i' de valència z_1 i un anió 'j' de valència z_j . Suposem que aquests ions es mouen únicament per difusió passiva.

Com s'ha vist en un apartat anterior: $IR_m = E - \Delta\psi$

En aquest cas, $R_m = \frac{R_i \cdot R_j}{R_i + R_j}$ i $E = R_m \left[\frac{E_i}{R_i} + \frac{E_j}{R_j} \right]$

Per abolir la Dpt cal aplicar un corrent oposat a través de l'epiteli tal que

$$IR_m = - \Delta\psi \quad (\text{per la llei d'Ohm})$$

La intensitat d'aquest corrent és

$$(I)_{\Delta\psi=0} = \frac{E_i}{R_i} + \frac{E_j}{R_j}$$

doncs en aquestes condicions la Dpt és zero, per tant, $IR_m = E$

Si a més no hi ha diferència de concentració a ambdós costats de l'epiteli, aleshores

$$\Delta\psi = R_m \left[\frac{E_i}{R_i} + \frac{E_j}{R_j} \right]$$

Per tant, $\Delta\psi = R_m (I)_{\Delta\psi=0, \Delta c=0}$, $(I)_{\Delta\psi=0, \Delta c=0} = \frac{\Delta\psi}{R_m}$

Si els ions 'i' i 'j' només poden travessar la cèl.lula per difusió i les dues solucions tenen igual composició, $E = 0$ i $\Delta\psi = 0$, per tant la I_{cc} és zero. Si en aquestes condicions experimentals es mesura una intensitat de corrent és que aquests ions es mouen gràcies a forces no conjugades, majoritàriament per transport actiu.

Considerant que només un dels dos ions és transportat activament i l'altre només per difusió passiva, es demostra

que la I_{cc} és igual a la magnitud en que el $i\bar{o}$ és transportat activament.

El corrent de curt-circuit pot ésser considerat com el corrent extern que ha de passar a través de l'epiteli per tal d'anular el corrent generat pel mecanisme de transport actiu i fer que $\Delta\psi = 0$ (schultz, 1980).

2.2.3. Transport de ions a l'epiteli intestinal

Hi han diferències en el transport de ions entre l'epiteli del budell prim i l'epiteli del còlon degut als diferents tipus d'unions intercel.lulars que tenen i que fan que la permeabilitat iònica de la via paracel.lular varii d'un tipus a l'altre.

L'epiteli del budell prim és de tipus lax ja que les unions intercel.lulars no són gaire fortes. Això es tradueix en una Dpt baixa, una resistència al pas de ions baixa i una permeabilitat passiva als ions i a l'aigua força elevada.

En relació a paràmetres com la Dpt, la resistència al pas de ions i la permeabilitat passiva als ions i a l'aigua, l'epiteli del còlon és intermig entre el del budell prim i el de la bufeta urinària (que té una Dpt elevada i una permeabilitat passiva baixa).

2.2.3.1. Transport de ions al budell prim

Es donen tres processos cel.lulars:

1. Absorció activa de $i\bar{o}$ sodi no acoblada a l'entrada d'altres soluts.

El $i\bar{o}$ sodi pot entrar a la cèl.lula per la membrana luminal per difusió passiva degut al gradient químic i elèctric que hi ha, sense necessitat del concurs d'una font

d'energia. La sortida d'aquest ió per la membrana basolateral es fa contra el gradient elèctric i químic. L'ATPasa dependent dels ions sodi i potasi és la responsable d'aquest procés proporcionant l'energia necessària a partir de la hidròlisi de l'ATP. Aquest enzim és inhibible per ouabaína. La sortida activa de ió sodi ve acompanyada per una entrada de ió potasi, també contra gradient. Aquest procés és electrogènic doncs la sortida de ió sodi excedeix l'entrada de ió potasi, generant doncs un corrent elèctric que fa que el costat serosal de l'epiteli quedi carregat positivament respecte el mucosal (Kimmich, 1984). Això fa que hi hagi una difusió passiva de clorur, que té lloc sobretot per la via paracel·lular (figura 6).

2. Absorció de ió sodi acoblada a l'absorció de no electròlits.

L'absorció d'alguns soluts orgànics solubles en aigua és dependent de l'absorció acoblada de ió sodi. Aquest sistema de transport està localitzat exclusivament a la membrana luminal. En el cas dels monosacàrids, aquest sistema de transport pot ésser inhibit selectivament per florricina. L'energia per aquest transport normalment prové del flux de ió sodi a favor del gradient electroquímic. Aquesta energia és superior a la requerida pel solut per entrar en contra del seu gradient de concentració. És el cas de la galactosa o de la glucosa. A part dels sucres, hi han altres substàncies que també són transportades per un sistema acoblat al ió sodi, com és el cas dels aminoàcids, dels fosfats, dels sulfats i altres.

El ió sodi que ha entrat surt de la cèl·lula per la bomba de Na/K de la membrana basolateral. D'aquesta manera es manté una concentració baixa de ió sodi a l'interior de la cèl·lula a més d'una diferència de potencial de membrana que fa que pugui continuar l'entrada de ió sodi, i per tant

d'aquests soluts. La sortida dels substrats per la membrana basolateral té lloc per difusió facilitada.

En la figura 7 es pot veure un esquema d'aquest sistema de transport.

Degut a la diferència de càrregues creada a ambdós costats de l'epiteli hi ha una difusió de clorur cap al costat serosal per la via paracel.lular (Kimmich, 1984).

3. Absorció neutra de NaCl.

Fent experiments substituint el ió sodi o el clorur per un catió o un anió no transportats, s'ha observat una disminució en el pas d'aquests ions (sodi i clorur) per l'epiteli. Per tant, hi ha una absorció neutra de NaCl. Els inhibidors metabòlics aplicats al costat mucosal no afecten aquest flux de NaCl, per tant, l'energia metabòlica no hi està relacionada directament.

L'entrada de clorur per la membrana luminal té lloc en contra del seu gradient electroquímic i gràcies a l'entrada a favor de gradient del ió sodi. La bomba de ió sodi de la membrana basolateral proporciona indirectament l'energia necessària per aquest procés. Hi han dos models proposats per aquest transport: en un cas (figura 8a) el clorur entra en la cèl.lula acompanyant al ió sodi; en l'altre (figura 8b) hi ha un intercanvi entre ió sodi i protons i entre clorur i bicarbonat.

En el segon model, el ió sodi entra a favor de gradient afavorint la sortida del protó. Aleshores, per mantenir l'equilibri surt bicarbonat que fa que entri clorur. Aquests dos sistemes d'intercanvi estan acoblats via el pH. Recolzant aquesta hipòtesi hi ha els resultats obtinguts per Field i col. (1971) en mucosa aïllada d'ili de conill. Aquests autors demostren una secreció de bicarbonat per part

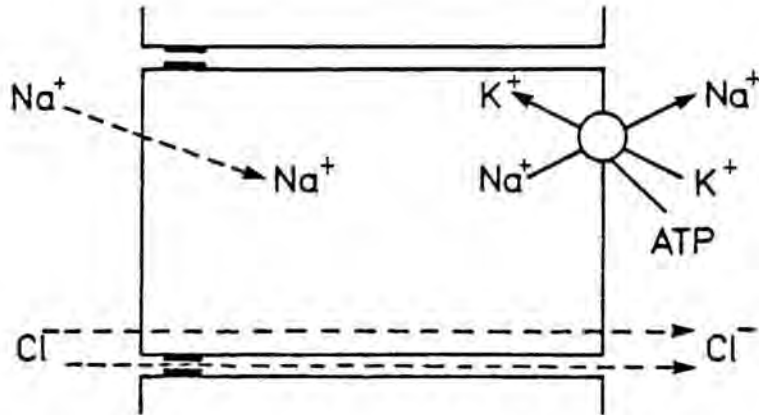


FIGURA 6: Model cel.lular per l'absorció no acoblada del ió sodi en el budell prim.
(Schultz, 1981)

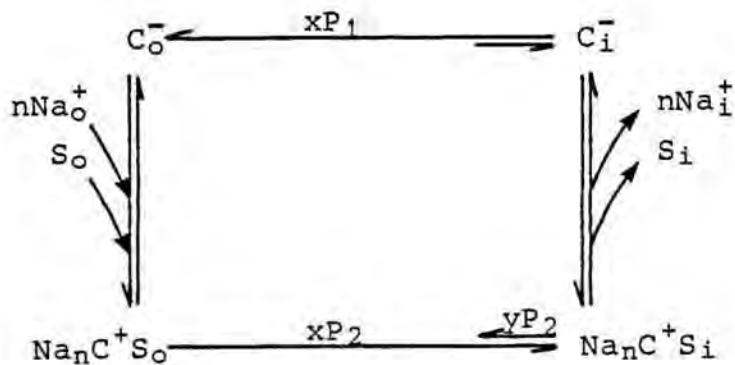
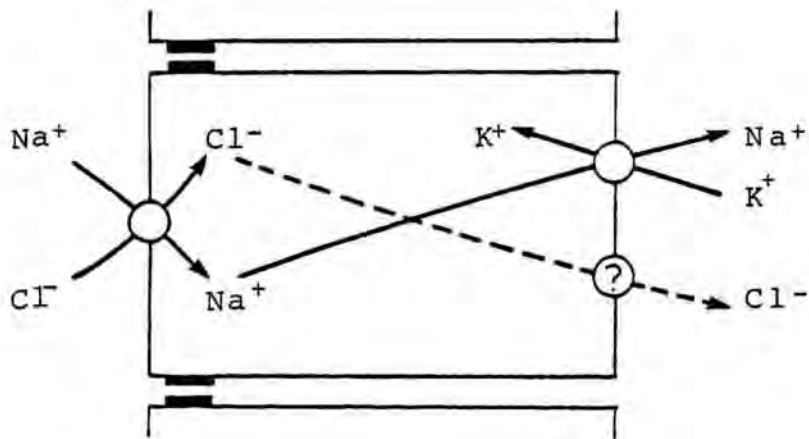
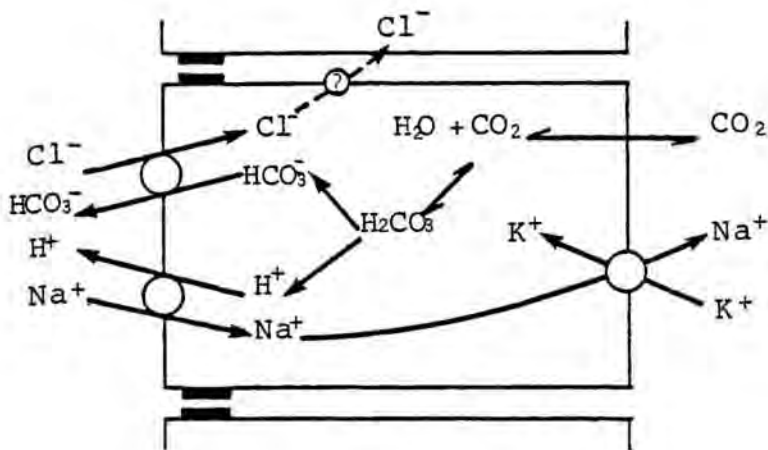


FIGURA 7: Esquema del transport del ió sodi acoblat a l'absorció de no electròlits al budell prim.
(Kimmich, 1984)



a) Cotransport directe de NaCl



b) Cotransport de Na^+-H^+ i $\text{Cl}^--\text{HCO}_3^-$

FIGURA 8: Models cel.lulars per l'absorció neutra de NaCl pel budell prim. (Schultz, 1981)

de l'enteròcit cap a la llum intestinal associada a l'absorció de clorur, contribuint també al valor del corrent de curt-circuit. També observen una correlació entre el transport de ió sodi i de clorur. Per altra banda, els resultats obtinguts per Schultz i col. (1964) en ili sencer de conill, indiquen que no hi ha transport actiu de bicarbonat ni de clorur. És possible que la raó per la que aquests últims autors no observen transport actiu de bicarbonat sigui el fet d'utilitzar el budell sencer, mancant l'oxigen necessari per portar a terme aquest procés degut a la barrera que suposen les capes musculars, segons Field i col. (1971).

En ambdós casos no s'explica bé la sortida de clorur de la cèl.lula doncs, malgrat que té lloc a favor del gradient electroquímic, la membrana basolateral no és gaire permeable al clorur (Frizzell i Schultz, 1979; Schultz, 1981).

2.2.3.2. Transport de ions al còlon de mamífers

Estudis fets 'in vivo' en còlon de rata, gos i humans, han establert que els ions sodi i clorur són absorbits i que els ions potasi i bicarbonat són secretats. En tots els casos, les mesures fetes de la Dpt entre el lumen i la cavitat peritoneal evidencien que el lumen és elèctricament negatiu respecte l'altra banda del budell. Per tant, els moviments nets de ió sodi cap a dintre i de bicarbonat cap a fora estan dirigits en contra de la força elèctrica existent. En canvi, els moviments dels ions potasi i clorur estan dirigits favorablement a la Dpt, encara que sembla ser que la sortida de ió potasi és en part un procés de secreció activa. Experiments fets amb acetazolamida i sobre els nivells d'absorció de clorur i secreció de bicarbonat, indiquen que hi ha un procés d'intercanvi de clorur i bicarbonat mitjançat per un transportador.

L'aldosterona fa augmentar l'absorció dels ions sodi i clorur. Això va acompanyat d'un augment de la Dpt, de l'absorció d'aigua i de la secreció de ió potasi.

S'han observat diferències en el transport de ió sodi i en el valor de la Dpt segons la zona estudiada del còlon. Així Edmonds (1967) va veure que la Dpt i l'absorció de ió sodi en el còlon de rata augmenta en direcció caudal. Rask-Madsen (1973) va observar el mateix en el còlon humà. Fromm i Hegel (1978) van trobar que en el recte la Dpt i l'absorció de ió sodi són estimulades per l'aldosterona i inhibides per l'amiloride. En canvi, en el còlon aquests paràmetres no són afectats per aquests agents.

Ha sigut amb els estudis fets 'in vitro' on s'ha pogut avançar en el coneixement dels mecanismes de transport de ions, doncs és més senzill mesurar i controlar una sèrie de paràmetres importants. La tècnica més útil per això és la del curt-circuit introduïda per Ussing i Zerahn el 1951.

A partir de l'obtenció dels valors de la R transepitelial s'ha pogut conèixer que l'epiteli del còlon és un cas d'epiteli moderadament estret. Degut a aquesta característica el còlon té una capacitat força important per generar i mantenir una diferència de concentració bastant gran dels ions sodi, potasi, clorur i bicarbonat entre ambdós costats del teixit. La permeabilitat de les unions intercel·lulars al pas dels ions sodi i clorur és molt baixa, en canvi és més gran en el cas del ió potasi. Les proporcions relatives són: PK:PNa:PCl = 1,00:0,07:0,11. Aquest aspecte afavoreix la secreció de ió potasi a favor del gradient electroquímic.

Hi han tres mecanismes possibles per l'absorció activa dels ions sodi i clorur que s'han deduït a partir de mesures dels fluxos d'aquests ions i de la Icc en còlon de rata i de conill (Schultz, 1981).

1. Absorció electrogènica de ió sodi.

En el còlon de conill hi ha acord entre el flux net de ió sodi i la Icc. Per altra banda s'ha vist que aquest flux no està influenciat per la presència o absència de clorur. Això fa pensar que en aquest epiteli no hi ha absorció acoblada dels ions sodi i clorur (Wills, 1984). Això també ho han observat Frizzell i Schultz en còlon sencer de rata (1979).

L'entrada del ió sodi dins la cèl.lula a través de la membrana apical es fa a favor del potencial electroquímic. S'han fet estudis electrofisiològics al respecte que han demostrat que el mecanisme d'aquesta entrada és per difusió simple a través de porus plens d'aigua o canals, doncs es compleixen les equacions pertinents. La concentració intracel.lular de ió sodi i la permeabilitat a aquest ió de la membrana apical actuen com a mecanisme regulador de retroalimentació negativa per aquest procés (Wills, 1984). Aquest pas és estimulat per l'aldosterona i també per certs anions orgànics o inorgànics.

La sortida del ió sodi cap a la zona serosal és un procés actiu en contra del potencial electroquímic mitjançat per la bomba de Na/K de la membrana basolateral que utilitza energia provinent de la hidròlisi de l'ATP. Aquest procés és inhibit per la ouabaïna i per l'absència de ió potasi al costat serosal.

El pas limitant per l'absorció de ió sodi és l'entrada pel costat apical doncs la bomba de la membrana basolateral normalment no es satura.

El flux de ió sodi cap al cantó serosal depèn de la concentració luminal de ió sodi. En canvi, el flux invers varia poc. La concentració luminal a la que el moviment net

de ió sodi és zero correspon a 10 mmol/l (Edmonds i Pilcher, 1972). El flux de ió sodi de la banda serosal a la mucosal té lloc només per la via paracel.lular.

El model cel.lular que es dedueix correspon al proposat el 1958 per Koefoed-Johnsen i Ussing en la pell de granota i millorat posteriorment (Wills, 1984). El model revisat és aplicable al còlon de mamífers. Com està indicat en la figura 9, el ió sodi entra a la cèl.lula a favor del gradient electroquímic a través de canals pel ió sodi sensibles a l'amiloride. El transport del ió sodi i possiblement la densitat dels canals són augmentats per l'aldosterona. També pot ser que hi hagi un mecanisme d'entrada de ió potasi en la membrana apical i una absorció de clorur electroneutre. La sortida del ió sodi de la cèl.lula té lloc a través de la bomba electrogènica. Probablement per cada tres ions sodi que surten n'entren dos de potasi. El gradient de ió potasi observat a través de la membrana és mantingut en gran part per l'activitat de la bomba, i la conductància al ió potasi de la membrana basolateral és deguda sobretot als canals de potasi bloquejables pel ió bari que tenen poca conductància pels ions sodi i clorur.

En el còlon no hi ha el mecanisme acoblat d'absorció de ió sodi i no electròlits. Malgrat això la glucosa té un efecte estimulador del transport neutre dels ions sodi i clorur (Binder i Rawlins, 1973).

2. Absorció de NaCl electricament neutre.

Els resultats obtinguts per Binder i Rawlins en el còlon de rata (1973) sugereixen que una fracció gran de l'absorció dels ions sodi i clorur és un moviment electricament neutre d'ambdós ions acoblats, similar al descrit per Nellans i col. en ili de conill. El moviment del ió sodi a favor de gradient proporciona l'energia necessària

per que entri el clorur en contra de gradient. Per tant, aquest és un procés de cotransport. La sortida del clorur pel costat serosal és un procés passiu que no necessita energia. El gradient de ió sodi és establert i mantingut per la bomba de Na/K de la membrana basolateral.

Els experiments fets per Binder i Rawlins (1973) amb còlon de rata, incubant el teixit en absència de clorur o de ió sodi, donen una alternativa a aquest mecanisme. L'absorció neutre de NaCl pot ésser deguda a dos sistemes separats d'intercanvi de ions, encara que relacionats. Per una banda hi hauria un intercanvi de ió sodi i protons i per l'altra de clorur i bicarbonat. Dos fets donen suport a aquesta idea: l'absència de bicarbonat inhibeix el transport net dels ions sodi i clorur; al tractar amb acetazolamida, inhibidor de l'anhidrasa carbònica, el transport de ió sodi s'inhibeix parcialment i el de clorur totalment.

Will i col. (1980) han observat una adaptació dels mecanismes d'absorció de ions del còlon de rata a diferents dietes. Aquesta adaptació suposa un canvi hormonal. Per exemple, al sotmetre als animals a una dieta baixa en ió sodi hi ha un increment de la secreció d'aldosterona (Edmonds i Pilcher, 1972). Els fluxos de ions i la Icc en el còlon descendent no són afectats per l'amiloride quan la dieta és normal, en canvi, quan la dieta no conté ió sodi s'observa una Icc sensible a l'amiloride.

3. Intercanvi neutre de clorur i bicarbonat.

En absència de ió sodi o en presència d'amiloride, el flux d'aquest ió i la Icc són abolits en el còlon de conill però en canvi es manté un flux de clorur. Per tant, el flux d'aquest ió ha d'ésser electricament silenciós i contrarrestat pel moviment d'un catió diferent al sodi en la mateixa direcció, o d'un anió en la direcció oposada. Aquest

flux és el corrent residual. En aquestes condicions no hi ha moviment de ió potasi a través del teixit, per tant es pensa que aquest flux de clorur és contrarrestat per l'absorció de protons o per la secreció de bicarbonat. Es conclou que l'absorció activa de clorur i la secreció de bicarbonat estan mitjançades per un mecanisme d'intercanvi d'anions. El bicarbonat secretat té un origen endògen doncs l'absència d'aquest ió en les solucions de bany no afecta al procés. Això està d'acord amb la inhibició de la secreció de bicarbonat i l'absorció de clorur en el còlon de rata produïda per l'acetazolamida (figura 10) (Frizzell i Schultz, 1979). Això s'observa bé si es treballa amb mucosa aïllada, però no sempre si es treballa amb budell sencer doncs manca oxigen en l'epiteli limitant el procés.

En referència al transport de ió potasi, els resultats dels estudis 'in vitro' indiquen que la secreció d'aquest ió observada 'in vivo' és deguda a un component de difusió degut a la Dpt (Binder i Rawlins, 1973) que és sobretot paracel.lular, i a un transport actiu transcel.lular que depèn de la permeabilitat de la membrana apical a aquest ió.

Es veu doncs que el mecanisme de l'absorció transcel.lular de ions varia segons l'animal i el segment del còlon estudiat:

- En el còlon descendent de conill i en el recte de la rata el ió sodi entra a través de la membrana apical per un procés conductiu bloquejable pel diurètic amiloride.

- En el còlon proximal i distal de la rata, el ió sodi entra a través de la membrana apical per dos mecanismes:

1. Un mecanisme electrogènic mesurat per la Icc. Aquest mecanisme no és afectat per la presència o no de substrat, doncs la seva presència no altera el valor de la Icc.

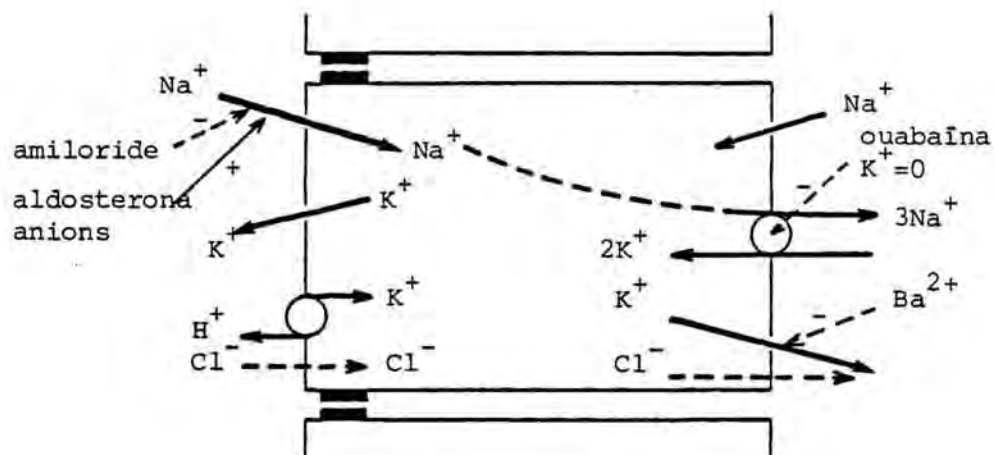


FIGURA 9: Model revisat pel transport actiu dels ions sodi i potasi en el còlon descendent de conill.
(Wills, 1984)

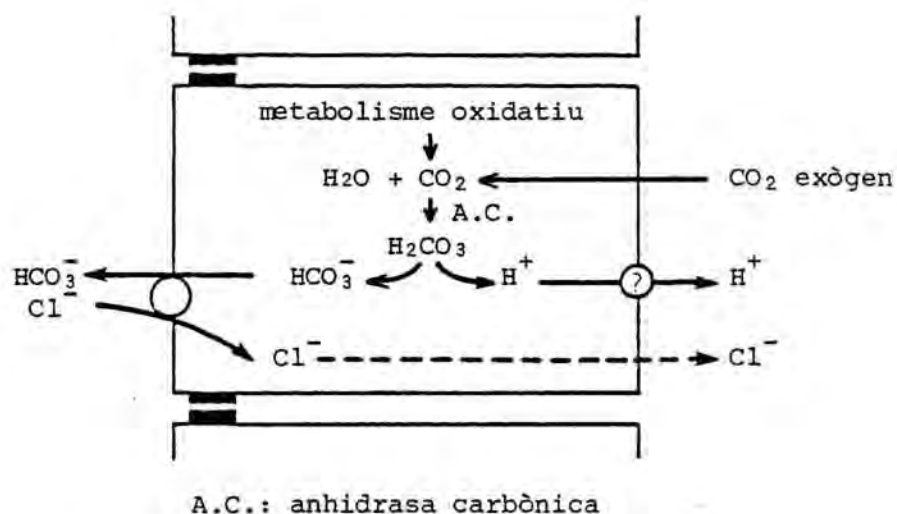


FIGURA 10: Model cel.lular per l'intercanvi obligatori de Cl^- - HCO_3^- en el còlon de conill.
(Schultz, 1981)

2. Un mecanisme neutre o acoblat reflectit pel fet de que el flux net de ió sodi que s'obté és més gran que la Icc i pel fet de que hi ha un flux net de clorur. Aquest mecanisme depèn marcadament del substrat exògen.

Els diferents mecanismes implicats en el transport de ió sodi en el còlon de diferents espècies animals estan relacionats hormonalment.

El mecanisme de sortida del clorur a través de la membrana basolateral no es coneix. Tanmateix, estudis fets amb estilbens disulfònics sugereixen que la sortida de clorur té lloc per un procés d'intercanvi neutre, encara que això no elimina la possibilitat de que hi hagi altres mecanismes de sortida del clorur per la membrana basolateral (Smith i McCabe, 1984).

2.2.3.3. Transport de ions al còlon de les aus

En el còlon del pollastre, el transport del ió sodi està afectat per la dieta. Els paràmetres de transport de ions varien segons la ingesta de ió sodi. Quan hi ha depleció del ió sodi en la dieta, augmenta l'absorció neta d'aquest ió per augment del nombre de llocs de transport de la membrana apical. Aquest procés és induït per l'augment de la quantitat d'aldosterona circulant que es produeix en aquestes condicions (Rice i Skadhauge, 1982).

La Icc és gairebé igual al transport net de ió sodi. Això sugereix un mecanisme d'absorció electrogènica d'aquest ió sense la presència d'una absorció neutre i acoblada de NaCl. A més, el flux del ió sodi en la direcció mucosal-serosal en condicions de curt-circuit es descriu bé amb una cinètica de Michaelis-Menten, tant si la dieta conté molt ió sodi com si en conté poc (Holtug i Skadhauge, 1982),

el que dóna més suport a la idea de que té lloc per transport actiu.

Per altra banda, el flux de ió sodi del costat serosal al mucosal presenta una relació lineal amb els canvis de la força elèctrica, així com els fluxos de clorur en ambdues direccions, que a més no difereixen entre ells. Els fluxos de clorur no depenen de la concentració de ió sodi, i per tant no estan relacionats amb el transport net d'aquest últim ió. Segons això aquests fluxos poden interpretar-se com a passius (Holtug i Skadhauge, 1982). Rice i Skadhauge (1982) , però, van suggerir un mecanisme d'intercanvi dels ions clorur i bicarbonat a rel dels experiments fets sobre l'absorció de clorur després de tractar amb amiloride.

Thomas i col. (1980) van demostrar que no hi han diferències entre la part proximal i distal del còlon en la Dpt, Icc i R, qualsevol que sigui el medi d'incubació o la dieta donada.

Quan la dieta conté ió sodi, el transport d'aquest ió en el còlon no és sensible a l'amiloride (Holtug i Skadhauge, 1982) i és estimulat per les hexoses i els aminoàcids (Chosniak i col., 1977). Això queda patent en l'augment dels valors de la Dpt i Icc al afegir aminoàcids o hexoses al medi d'incubació. La insensibilitat a l'amiloride s'ha interpretat com una reducció dels canals de ió sodi estimulats per l'aldosterona. Els pollastres alimentats d'aquesta manera suprimeixen en part l'absorció d'electròlits i aigua; hi ha una reducció de la capacitat de reabsorció, més patent quan en el medi no hi ha ni glucosa ni aminoàcids, i aleshores els valors que s'obtenen de Dpt i Icc són baixos.

Al donar una dieta amb poc NaCl hi ha una absorció elevada de ions sodi i clorur, així com d'aigua. L'elevada absorció del ió sodi està controlada parcialment per la

concentració plasmàtica d'aldosterona que està correlacionada inversament amb la ingesta de NaCl. Un factor que també és important en l'augment d'aquest transport net de ió sodi és el canvi en la permeabilitat de la membrana apical (Skadhauge, 1984). En aquest cas la Dpt i la Icc augmenten mentre que la R disminueix. A més, hi ha una pèrdua de la sensibilitat als aminoàcids i a la glucosa i l'aparició de sensibilitat a l'amiloride (Holtug i Skadhauge, 1982), (Lind i col., 1980). Sembla com si el canal de sodi sensible a l'amiloride fos totalment reemplaçat en la seva activitat per un mecanisme de cotransport de sodi-no electròlit (Skadhauge, 1984).

2.2.4. Valors de la Dpt i Icc mesurats en el budell de diferents espècies animals

Seguidament es presenta un recull dels valors dels paràmetres elèctrics obtinguts per diferents autors en diferents espècies animals. Al comparar els valors de diferents autors en el mateix segment d'una espècie animal, cal tenir en compte que les condicions experimentals no sempre han sigut les mateixes. També és important observar a quin moment (t) correspon la mesura indicada. Quan s'indica 'amb sodi' vol dir que la mesura ha estat efectuada en el budell d'un animal alimentat amb una dieta amb ió sodi; quan s'indica 'poc sodi' és que l'animal ha sigut alimentat amb una dieta amb poc contingut en ió sodi.

TAULA I

Espècie	Segment	T (°C)	Dpt (mV)	Icc (uA/cm ²) (ueq/cm ² h)	Observacions	Font bibliogràfica
Teleosti marí	intestí	18	-6,2	-500,0	sencer	Bolaños i Lorenzo, 1984
Llagosta de camp	recte	22	-16,3	-80,4	t (4 h)	Williams i col., 1978
Rata	cólon	32	+15,0	+143,0		Edmonds i Marriott 1968
Rata	cólon	37		1,2 1,0	mucosa sencer t (80 min)	Binder i Rawlins, 1973
Conill	ili	38	+9,1	+136,0	t (0 min)	Schultz i Zalusky, 1964
Conill	ili	37		+58,0 +39,0	mucosa sencer t (30 min)	Field i col., 1971
Gallina (in vivo)	coprodeum cólon		+14,0 +78,0 +3,5 +33,0		amb sodi poc sodi amb sodi poc sodi	Rice i Skadhauge, 1982
Gallina	cólon	38	+13,0 +16,6	9,0 12,0	amb sodi poc sodi	Holtug i Skadhauge 1982
Pollastre	coprodeum	37	+4,8 +37,3	+17,0 +284,0	amb sodi poc sodi	Chosniak i col., 1977
Pollastre	coprodeum	37	+34,0	+250,0	poc sodi	Lyngdorf-Henriksen i col., 1978

3. MATERIALS I MÈTODES

3.1. REACTIUS I SUBSTÀNCIES EMPRADES

S'han emprat les següents substàncies, per ordre alfabètic:

- Àcid clorhídric, (HCl), (P.M. 36,5), Panreac, Barcelona.
- Agar-Agar, U.S.P., pols, Doesder, Barcelona.
- Amiloride clorhidrat, (C₆H₈ClN₇O HCl.2H₂O), (P.M. 302,16), Merck Sharp & Dohme de España, S.A.E. NÇA. F-0057, lot 810015.
- Bicarbonat potàsic, p.a., (KHCO₃), (P.M. 110,12), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 4854, lot 8537363.
- Bicarbonat sòdic, (NaHCO₃), (P.M. 84,01), Probus.
- Clorur càlcic deshidratat, (CaCl₂), (P.M. 110,99), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 2388, lot 1128915.
- Clorur de colina, (C₅H₁₄ClNO), (P.M. 139,62), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 500117, lot 0082997.
- Clorur de lantà, (LaCl₃.7H₂O), (P.M. 371,4), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 12219, lot 317ZA4020019.
- Clorur magnèsic hexahidratat, p.a., (MgCl₂.6H₂O), (P.M. 203,31), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 5833, lot 8589735.
- Clorur de mercuri I, (Hg₂Cl₂), (P.M. 472,09), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 4422.

- Clorur potàsic, RPE, (KCl), (P.M. 74,56), Carlo Erba, Milán, Italia. Cod. 471177, lot G227910 7D1072.

- Clorur sòdic, RPE, (NaCl), (P.M. 58,44), Analyticals, Carlo Erba, Milán, Italia. Cod. 498581, lot 2683I100.

- Fosfat dipotàsic trihidratat, p.a., ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$), (P.M. 228,23), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 5099, lot 2448196.

- Fosfat monopotàsic, p.a., (KH_2PO_4), (P.M. 136,09), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 4873, lot 5239361.

- D(+)-Glucosa monohidratada, ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$), (P.M. 198,17), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 8342, lot 70149426.

- DL- β -hidròxibutirat sòdic, ($C_4H_7O_3Na$), (P.M. 126,1), Sigma Chemical Company, St. Louis, EUA. Art. No. H-6501, lot 108C-0022.

- Hidròxid sòdic, p.a., (NaOH), (P.M. 40,00), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 6498, lot 411 C445598.

- L-Leucina, CHR, ($C_6H_{13}NO_2$), (P.M. 131), Koch-Light Laboratories Ltd, Colnbrook Bucks, Anglaterra. Art. 3437-00, lot 85902.

- D(-)-Manitol, ($C_6H_{14}O_6$), (P.M. 182,17), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 5980, lot 426 K4442380.

- Mercuri, p.a., (Hg), (P.M. 200,59), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 4403.

- Ouabaïna octahidrat, (Strofantina-G, $C_{29}H_{44}O_{12} \cdot 8H_2O$), (P.M. 728,6), Sigma Chemical Company, St. Louis, EUA. Art. No. O-3125, lot 59C-0102.

- Pentobarbital sòdic, (Mebumal ió sodium USP XIX BP 1973 Ph HVI BPC 1973, $C_{11}H_{17}N_2O_3Na$), (P.M. 248,29), Siegfried Zofingen, Suïssa. Art. 197110, Batch OL99778.

- Sulfat magnèsic heptahidratat, p.a., ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), (P.M. 246,48), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 5886, lot 8571823.

- 2,4,6-triaminopirimidina (TAP), (P.M. 125,1), Sigma Chemical Company, St. Louis, EUA. Art. No.T-7001, lot 88C-0524.

- Tris(hidròximetil)-aminometà, p.a., ($C_4H_{11}NO_3$), (P.M. 121,14), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 8382, lot 8544892.

- Tritó X-100, (Polietilenglicol-mono- p-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenil -eter), E. Merck, Darmstadt, Alemanya. Art. 12298, lot 4177095.

- Uretà, Ph. Helv., ($NH_2COOC_2H_5$), (P.M. 89,10), Fluka AG, Chemische Fabrik CH-9470 Buchs, Suïssa. Art.94300, lot 231080 483.

3.2. APARELLS

- Phmetre Crison, model DIGIT 501, Barcelona.
- Oscil.loscopi Hewlett-Packard, model 1201A, EUA.
- Supertester ICE, model 680 R, Milán, Italia.
- Termostat d'immersió Gricel, Barcelona, Espanya.
- Termòmetre de contacte Frowi, model FW 21.
- Osmòmetre electrònic semimicro Knauer, model M, Berlín, Alemanya.
- Bomba circuladora Ealing, model 50-1932, Anglaterra.
- Ordinador personal Sharp, model MZ-80B, No. 17B00676, Ref. NCC, EUA.
- Fotòmetre de flama Corning, model 400, Halstead, Essex, Anglaterra.

3.3. MEDIS D'INCUBACIÓ. AIREACIÓ DELS MEDIS. SOLUCIONS DE DIFERENTS REACTIUS

Medis d'incubació i rentat

S'han emprat cinc medis d'incubació diferents. En tots els casos, el mateix medi servia també per el rentat del teixit previ a la incubació. Els medis que s'han fet servir són els següents:

1- Medi d'incubació Krebs-Henseleit, segons Edmonds i Marriott (1968). És una solució aquosa constituïda per

Na ⁺	143,34 mmol/l
K ⁺	7,34 mmol/l
Ca ⁺⁺	2,51 mmol/l
Mg ⁺⁺	1,18 mmol/l
Cl ⁻	129,63 mmol/l
H ₂ PO ₄ ⁻	1,19 mmol/l
HCO ₃ ⁻	24,88 mmol/l
SO ₄ ⁼	1,18 mmol/l

Per preparar aquesta solució es parteix de solucions mare de les següents sals: NaCl, CaCl₂, KH₂PO₄, MgSO₄.7H₂O, NaHCO₃. De cadascuna s'en agafen els ml necessaris per que en la solució final hi hagi els milimols indicats, i s'enrasa amb aigua destil.lada.

Aquest medi d'incubació s'empra sol o bé afegint glucosa com a substrat metabolitzable fins a una concentració de 10 mM.

2- Medi d'incubació Krebs-fosfat. És una solució aquosa constituïda per

Na ⁺	140,0 mmol/l
K ⁺	12,0 mmol/l
Ca ⁺⁺	1,2 mmol/l
Mg ⁺⁺	1,0 mmol/l
Cl ⁻	142,4 mmol/l
H ₂ PO ₄ ⁻	4,0 mmol/l
H PO ₄ ⁼	4,0 mmol/l
SO ₄ ⁼	1,0 mmol/l

Per preparar aquesta solució es parteix de solucions mare de les següents sals: NaCl, CaCl₂, K₂HPO₄, KH₂PO₄, MgSO₄. De cadascuna s'en agafen els ml necessaris per que en la solució final hi hagi els milimols indicats, i s'enrasa amb aigua destil.lada.

3- Medi d'incubació de Ringer. S'ha utilitzat la composició descrita per Thompson i col. en còlon de conill (1982), Binder i Rawlins en còlon de rata (1973), i per Field i col. en ili de conill (1971). És una solució aquosa constituïda per

Na ⁺	140,0 mmol/l
K ⁺	5,4 mmol/l
Ca ⁺⁺	1,2 mmol/l
Mg ⁺⁺	1,2 mmol/l
Cl ⁻	124,0 mmol/l
H ₂ PO ₄ ⁻	0,6 mmol/l
HPO ₄ ⁼	2,4 mmol/l
HCO ₃ ⁻	21,0 mmol/l

Per preparar aquesta solució es parteix de solucions mare de les següents sals: NaCl, CaCl₂, NaHCO₃, K₂HPO₄, KH₂PO₄, i MgCl₂. De cadascuna s'en agafen els ml necessaris per que en la solució final hi hagi els milimols indicats, i s'enrasa amb aigua destil.lada.

A la majoria dels experiments s'ha afegit glucosa a la concentració de 10 mmol/l o bé glucosa 10 mmol/l i àcid β -hidroxibutíric 1 mmol/l com a substrats metabolitzables.

El medi de Ringer també s'ha emprat amb algunes modificacions:

- Ringer sense ió sodi. Es substitueix tot el clorur sòdic per clorur de colina.

- Ringer amb 2,4,6-triaminopirimidina (TAP) a una concentració 20 mM. El TAP és poc soluble en aigua. Degut a això, primer es dissol amb una mica d'àcid clorhídric (per 125 mg de TAP, 1,5 ml de HCl 0,4 M), i després s'enrasa amb Ringer preparat de forma normal. Cal carbogenar aquest medi i ajustar el pH.

- Ringer amb 20 mM de manitol. S'afegeix la quantitat de manitol necessària per arribar a aquesta concentració a la solució de Ringer preparada de forma normal.

4- Medi d'incubació 199 modificat. És un medi de cultiu de teixits, sintètic, líquid, que conté sals inorgàniques, aminoàcids, vitamines i altres components. La casa comercial (GIBCO) el dóna ja preparat. La seva composició pot trobar-se al catàleg de la casa GIBCO, Cat. No. 041-1153.

5- Medi d'incubació L-15 (Leibovitz). És un medi de cultiu de teixits, sintètic, líquid que conté sals inorgàniques, aminoàcids, vitamines i altres components. La casa comercial (GIBCO) el dóna ja preparat. La seva composició pot trobar-se al catàleg de la casa GIBCO, Cat. No. 041-1415.

Les solucions dels medis 1, 2 i 3 es preparen a partir de les solucions mare just abans d'iniciar l'experiment.

El pH de les solucions cal ajustar-lo a 7,4. Previament a la mesura del pH, la solució es satura amb carbògen (O₂ amb un 5% de CO₂) o bé amb oxigen pur, segons cada cas. Aquest procés és essencial en el cas de les solucions amortidores a base de bicarbonat perquè d'aquesta manera tant la pressió parcial de CO₂ com la quantitat de bicarbonat en solució seran les mateixes que durant tot el període d'incubació. L'ajust es fa emprant una solució diluïda d'àcid clorhídric o una solució diluïda de hidròxid sòdic, o bé de Tris, segons el pH resulti excessivament bàsic o àcid, respectivament.

L'osmolaritat que s'obté és de 286 +/- 1,44 (n= 32) mOsm/l.

Aireació dels medis

Durant tot l'experiment, el medi es manté airejat constantment amb carbògen (95% O₂:5% CO₂), quan el medi conté bicarbonat o bé amb oxigen quan el medi no en conté.

Solucions de diferents reactius emprats

1- Solució de tritó. Es prepara una solució de 315 g/l de tritó amb solució de NaCl de 9 g/l. D'aquesta solució s'en agafen 100 ul que són els que s'afegiran al medi d'incubació de les cambres. La concentració final a la que es troba el tritó en la solució en contacte amb el teixit és de 4 ml/l (7,9 g/l).

2- Solució d'amiloride. Es prepara una solució de 943 mg/l d'amiloride amb aigua destil.lada. D'aquesta solució s'en agafen 100 ul que s'afegeixen al medi d'incubació de les cambres. La concentració final que resulta és de 0,1 mmol/l.

3- Solució de ouabaïna. Es prepara una solució de 2,993 g/l de ouabaïna amb aigua destil.lada. D'aquesta solució s'en agafen 100 ul que s'afegeixen al medi d'incubació de les cambres, resultant una concentració final de 0,1 mmol/l.

4- Solució de leucina. Es prepara una solució de 13,427 g/l de leucina amb aigua destil.lada. D'aquesta solució s'en agafen 200 ul que s'afegeixen al medi d'incubació de les cambres, resultant una concentració final de 5 mmol/l.

5- Solució de manitol. Es prepara una solució de 37,345 g/l de manitol amb aigua destil.lada. D'aquesta solució s'en agafen 100 ul que s'afegeixen al medi d'incubació de les cambres a més de 100 ul d'aigua destil.lada, així la concentració final de manitol en la cambra és de 5 mmol/l.

3.4. ANIMALS D'EXPERIMENTACIÓ

S'han emprat rates albines, mascles i femelles, de raça Wistar, d'edats compreses entre 14 i 18 setmanes i pesos que varien entre 190 i 350 g, sent les femelles les de menor pes i els mascles els de pes més elevat. Han estat alimentades amb una dieta de manteniment rata-ratolí tipus A-04 de la casa Panlab S.A. Les rates han estat mantingudes en les condicions de temperatura, humitat i il.luminació adequades a l'estabulari de la Facultat.

S'han emprat pollastres mascles, blancs, de la raça Leghorn línia comercial Shaver-Starcross-288, procedents de la Cooperativa Comarcal d'Avicultura de Reus, d'edats compreses entre 55 i 123 dies, i de pesos que van de 641 a 1800 g. Fins les quatre setmanes d'edat, tots han sigut alimentats amb pinso Super-iniciarina (Purina, Gallina Blanca, Barcelona) i s'els hi ha aplicat una font de calor addicional. A partir de les quatre setmanes s'els hi ha administrat una dieta de Super-gordina (Purina, Gallina Blanca). La composició dels pinsos és la següent:

Composició nutritiva	Iniciarina	Gordina
Substància seca	87,44 %	86,44 %
Cendres	5,94 %	5,44 %
Proteïna bruta	21,86 %	20,06 %
Proteïna digerible	17,50 %	16,00 %
Grassa bruta	6,00 %	9,00 %
M.E.L1..	50,37 %	48,48 %
Fibra bruta	3,27 %	3,46 %
Unitats alimentàries	106,00 %	109,00 %
Proteïna digerible per U.A.	165,00 g	147,00 g
Clorur sòdic	0,54 %	0,52 %
Calci	0,79 %	0,81 %
Fòsfor	0,55 %	0,49 %
Vit A	14.100 UI/kg	12.100 UI/kg
Vit D	1.410 UI/kg	1.210 UI/kg
Vit E	32 mg/kg	33 mg/kg

Ingredients	Iniciarina	Gordina
Cereals	58 %	58 %
Farina de lleguminoses	1 %	2 %
Gluten de blat de moro	1 %	1 %
Farines de llavors oleaginoses	28 %	24 %
Farina protèica animal	7 %	6 %
Grassa animal	3 %	7 %
Corrector mineral	1 %	1 %
Corrector vitamínic	1 %	1 %
Nitrovín	15 mg/kg	15 mg/kg
Cocciostàtic	125 mg/kg	125 mg/kg

A un grup reduït de pollastres s'els hi ha donat una dieta pobre en ió sodi a base de blat i ordi a parts iguals. Com a mínim han estat alimentats d'aquesta manera durant 9 dies (màxim 30 dies), abans d'ésser utilitzats.

En tots els casos els pollastres tenien lliure accés a l'aigua. Els animals han sigut mantinguts en les condicions de temperatura, humitat i il.luminació adequades a l'estabulari de la Facultat.

3.5. DESCRIPCIÓ DEL MUNTATGE

3.5.1. Cambres (fig 11)

Per a la mesura de la Dpt i de la Icc cal tenir el budell en condicions lo més semblants possible a les fisiològiques i d'una forma apta per poder acoblar-hi els aparells per a la mesura dels paràmetres elèctrics. Per aquest fi s'empren cambres de fluxe de metacrilat especialment dissenyades, similars a les descrites per Ussing i Zerahn (1951) agrupades en un bloc format per sis cambres independents. Cada cambra unitària està formada per dues cavitats cilíndriques verticals que contindran el medi d'incubació, comunicades en la base per un cilindre horitzontal de menor diàmetre, que contindrà el teixit en el seu punt mig. Aquest sistema permet separar completament el cantó mucosal del serosal del teixit. El bloc de cambres s'obra per la meitat per poder col·locar fàcilment els segments intestinals. Per aconseguir que el teixit quedi fixe entre les dues semicambres, i també per que siguin estanques, hi ha una arandela de goma i quatre petites puntes metàl·liques a una de les dues semicambres unitàries que encaixen en quatre orificis de l'altra.

A més, cada semicambra unitària té dos petits orificis addicionals que comuniquen la part inferior amb l'exterior de forma que un d'ells queda a pocs mm del teixit i l'altre lo més separat possible. Pels orificis més aprop del teixit, que tenen un diàmetre aproximat de 1 mm, s'introduiran els ponts d'agar que connecten els electodes de mesura de la Dpt amb la solució. Pels orificis més llunyans, lleugerament més amples, uns 2 mm de diàmetre, s'introduiran els ponts que connecten els electodes de mesura de la Icc amb la solució.

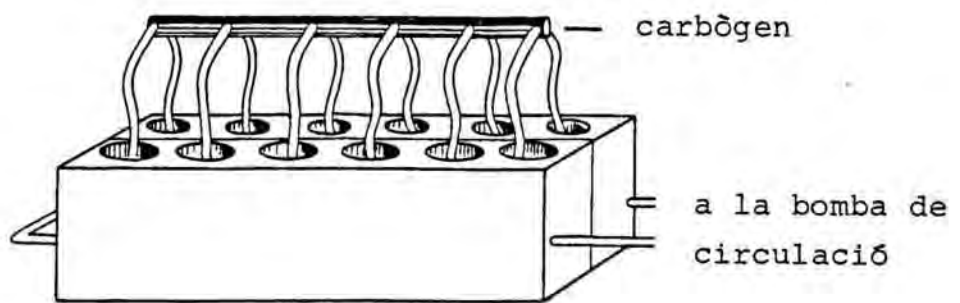
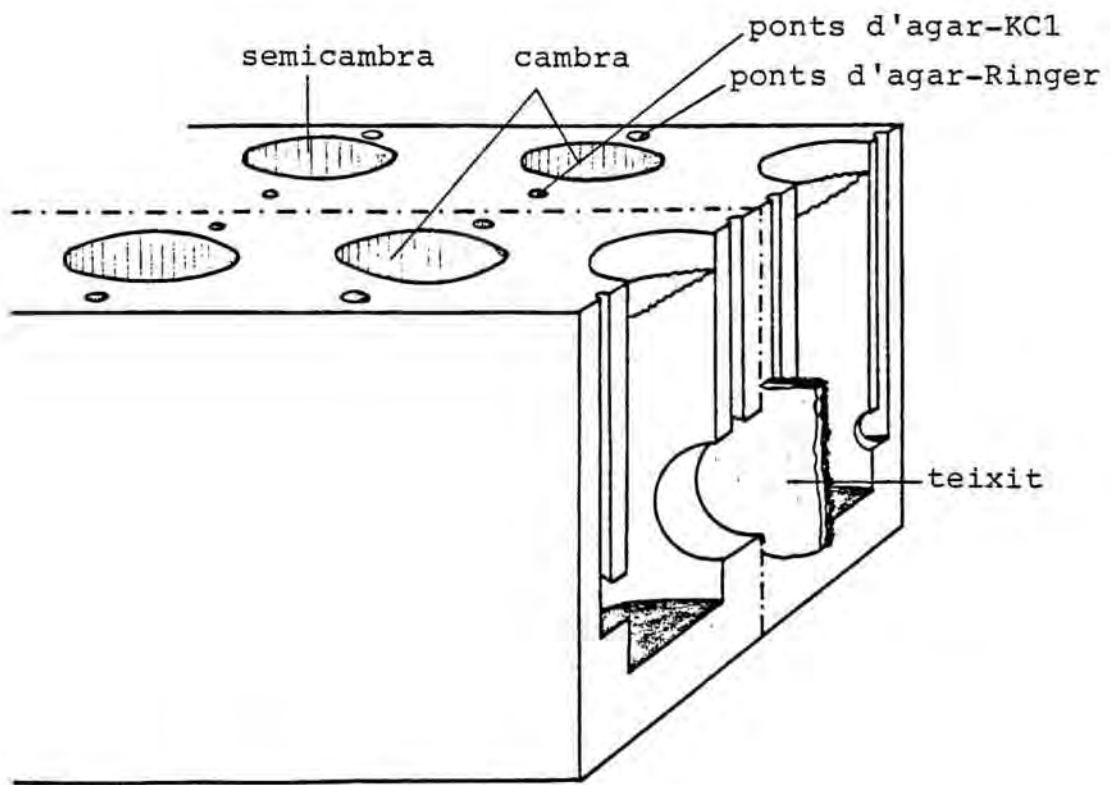


FIGURA 11: Cambres

El conjunt té un compartiment addicional amb uns conductes d'entrada i sortida pels que es fa circular aigua a una determinada temperatura, gracies a una bomba de circulació amb termostat.

El volum mig total de cada semicambra és de 7,66 ml.

3.5.2. Mesura de la Dpt

Per poder mesurar la Dpt a través d'una membrana cal un voltímetre conecat amb les solucions que banyen el teixit mitjançant electrodos adequats. Sorgeix aquí la necessitat de preparar un parell d'electrodos adequat al sistema.

També cal un aparell de mesura que pugui ésser sensible a la magnitud de la diferència de potencial que aquí es té de forma que l'amplifiqui per tal de que pugui ésser llegida. Com a aparell de mesura s'empra un oscil.loscopi d'elevada impedància.

Si es posen els electrodos en contacte directe amb les solucions d'ambdós costats de la membrana, la diferència de potencial mesurada no es correspon amb la diferència de potencial a través del teixit. L'explicació és la següent:

Si s'inserta un parell d'electrodos en el sistema, un a cada costat de la membrana, existirà necessàriament a cada interfase solució-electrode un potencial anomenat potencial de l'electrode. Per tant, el potencial que es mesura (Dpt-m) és en un principi la suma algebràica de tres potencials:

$$\text{Dpt-m} = \text{Dpt-membrana} + \text{Dp-electrode/solució-1} + \text{Dp-electrode/solució-2}$$

Cal aconseguir que els dos últims termes de la suma siguin gairebé zero. Això és molt important doncs quan es

mesura la diferència de potencial en una membrana, es vol mesurar una quantitat que és una propietat del sistema iònic i no una quantitat dependent del parell d'electrodes que s'escull per a la mesura.

Amb el sistema muntat d'aquesta manera els dos últims termes no s'anulen mutuament degut a que els potencials d'electrode d'ambdós electrodes no tenen la mateixa magnitud ja que les solucions on es troben tenen diferent càrrega iònica, doncs tenen lloc processos de pas de ions per la membrana. Cal buscar un altre sistema.

Es podria emprar un parell de fils conductors posats en contacte directament amb la solució. Però tampoc aniria bé doncs no hi ha un procés ben definit pel potencial d'aquests cables. Així doncs, no es coneix quina és la dependència d'aquest potencial respecte la concentració dels diferents ions.

La solució és mesurar la Dpt introduint ponts salins apropiats. En lloc de posar els electrodes directament en les solucions, es fan servir uns ponts salins, normalment de KCl, per connectar electrodes i solució. Es podria pensar que això encara és pitjor doncs s'augmenta el nombre d'interfases, però al reflexionar es veu que no: ara, els electrodes estan en contacte amb solucions idèntiques i per tant, els potencials dels electrodes són iguals i s'anulen mutuament. Els potencials creats en la interfase del pont salí amb el medi d'incubació són petits, gairebé despreiables, doncs els ions potasi i clorur tenen la mateixa conductància iònica i estan en elevada concentració. Aleshores es té que l'únic potencial que es mesura és el creat a través de la membrana (Finkelstein i Mauro, 1977).

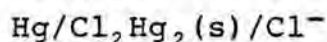
3.5.2.1. Electrodes de calomelans

Són electrodes reversibles tipus metall-sal insoluble. Aquests electrodes estan formats per mercuri que actua com a portador d'electrons i que intervé en la reacció electròdica. Aquest metall està en contacte amb una sal insoluble d'aquest metall (Hg_2Cl_2) que a la vegada està en contacte amb una solució d'una sal que té el mateix anió que la sal insoluble (KCl).

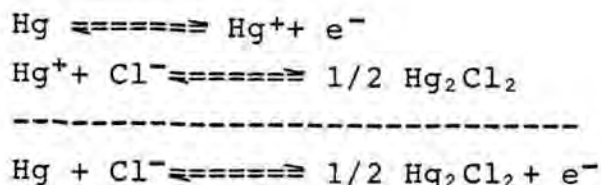
El mercuri té propietats que fan que sigui un metall molt apte per obtenir un bon comportament dels electrodes: és un metall noble, líquid, fàcil de purificar i fàcil d'obtenir en un estat estàndart, amb propietats força independents de les característiques químiques, mecàniques o tèrmiques d'allà a on es troba. També forma un gran nombre de compostos mercuriosos estequiòmètrics, força ben cristal·litzats i poc solubles en aigua, que podran actuar bé com a fase invariable d'aquests electrodes.

Els electrodes de calomelans s'utilitzen com a electrodes de referència o electrodes de potencial fixe. És aquest últim ús el que aquí es contempla.

La notació abreujada de l'electrode és la següent:



Les reaccions que tenen lloc en els electrodes són les següents:



Aquests electrodes proporcionen un potencial molt constant de valor 0,242V a 25°C en comparació amb l'electrode normal de hidrògen.

El pas de ions pel teixit degut als processos fisiològics que tenen lloc crea un corrent que fa que cada un dels electrodes actui de forma inversa respecte de l'altre. D'aquesta forma els potencials dels dos electrodes s'anulen mutuament i aleshores només es mesura la Dpt creada a ambdós costats del teixit.

La preparació d'aquests electrodes es fa seguint la norma clàssica amb algunes variacions. Així, en lloc d'emprar com a suport un tub de vidre s'utilitza una xeringa de plàstic. Com a contacte elèctric entre l'electrode i el voltímetre a on es mesurarà la Dpt, s'utilitza un fil de platí que s'introdueix per la zona estreta de la xeringa i es fixa amb escalfor. La xeringa s'omple amb el següent ordre:

- 1- 0,4 ml de mercuri.
- 2- Una quantitat de Hg_2Cl_2 de forma que ocupi entre el 50 i el 75% del volum que ocupa el mercuri. Cal tenir cura de que en cada parella d'electrodes les quantitats de Hg_2Cl_2 siguin similars.
- 3- 2 ml de solució 3M de KCl.

Cal que el Hg_2Cl_2 no tingui aire interposat. Per eliminar-lo s'introdueix un filferro i es remena la zona que

conté el Hg_2Cl_2 fins que ja no surt més aire. Convé que el clorur mercuriós tingui bon contacte amb el mercuri.

Els electrodes així preparats han de comprovar-se. Per tal de fer-ho es connecten al voltímetre i es posen en contacte en la mateixa solució, i s'observa la diferència de potencial que marca l'aparell de mesura, aquesta ha d'ésser zero. De fet, els electrodes de calomelans tenen una exactitud no superior als 0,1 mV. S'accepta un error fins a $\pm 0,3$ mV.

La vida dels electrodes és d'uns 20 dies, depenent de la seva utilització, després dels quals cal refer-los de nou (Ives i Janz, 1961; Valls, 1979).

3.5.2.2. Ponts d'agar-KCl

Per connectar els electrodes de calomelans amb el medi d'incubació s'empren uns ponts d'agar-KCl.

Es prepara una solució d'agar de 10 g/l amb solució de KCl 3M. Es porta a ebullició remenant continuament amb una vareta de vidre. Es deixa uns moments fins que s'observa que la solució és clara. Aleshores es deixa refredar una mica i amb això s'omplen uns tubs fins de plàstic, de 0,8 mm de diàmetre, que serviran de suport, amb l'ajuda d'una xeringa. Al refredar-se, l'agar solidifica fent més senzill el maneig dels tubs.

Els ponts cal conservar-los amb els extrems submergits en solució 3M de KCl per evitar l'evaporació de l'aigua i la consegüent pèrdua de funcionalitat. Amb el temps, es fan petits cristalls de KCl a l'interior dels tubs per lo que és convenient buidar-los i reomplir-los cada tres setmanes.

3.5.3. Tècnica descrita per Ussing per a la determinació de la Icc

La Icc és la intensitat del corrent que es mesura quan s'anul·la la Dpt. La condició de curt-circuit s'aconsegueix fent passar un corrent a través de la membrana d'igual magnitud però de sentit contrari al mesurat en el voltímetre. Un amperímetre connectat en sèrie dintre aquest circuit indica la intensitat del corrent que passa.

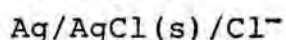
Per aplicar un corrent de direcció oposada al que hi ha, és necessària una font de corrent de la que pugui variar-se la seva magnitud fins aconseguir que la Dpt sigui zero. Per connectar aquesta amb les solucions de bany són necessaris uns electrodes i uns ponts d'agar (per les raons esmentades en el punt 3.5.2.). A més, dintre del circuit general ha d'haver-hi connectat un aparell de mesura de la intensitat del corrent que passa. Amb aquesta finalitat s'empra el microamperímetre d'un 'tester'.

3.5.3.1. Electrodes de Ag/AgCl

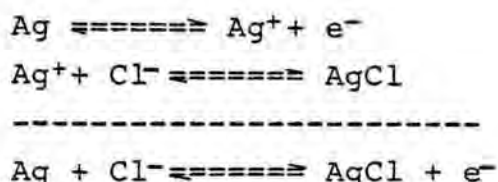
Són també electrodes reversibles tipus metall-sal insoluble. En aquest cas el metall que actua com a portador d'electrons i que intervé en la reacció electròdica és un fil de plata. La sal insoluble en contacte amb el metall és AgCl, i la solució que conté el clorur, en el cas que aquí es tracta, és la mateixa solució de Ringer.

Aquests electrodes són petits i compactes i normalment no contaminen el medi a on estan immersos.

La notació abreujada de l'electrode és la següent:



Les reaccions que tenen lloc en els electrodes són les següents:



Aquests electrodes proporcionen un potencial molt constant que comparat amb l'electrode normal de hidrogen, i a 25 C, té un valor de 0,2223V. En cada parella d'electrodes un actuarà de forma inversa a l'altre, anul·lant-se així l'efecte del potencial base dels electrodes.

La fabricació d'aquests electrodes és delicada degut a que hi han fases sòlides. Aleshores, fàcilment hi haurà variacions en les propietats termodinàmiques degut a variacions en la tensió mecànica, estructura cristal·lina, impureses, no estequiometria, pel·lícules de superfície. El problema bàsic és obtenir els components de l'electrode en l'estat més estable de mínima energia. Per tal d'obtenir una millor estabilitat, sensitivitat i reproductibilitat, hi han quatre mètodes de construcció d'aquests electrodes:

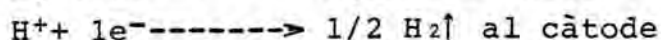
- 1- Dipositació electrolítica de Ag i AgCl.
- 2- Descomposició tèrmica d'una pasta de Ag_2O , AgCl i H_2O per a formar Ag-AgCl.
- 3- Formació de AgCl per electròlisi en una pasta de Ag_2O reduïda tèrmicament (sistema tèrmic-electrolític).
- 4- Precipitació de AgCl sobre Ag.

Els electrodes de Ag/AgCl que s'empren en aquest treball s'han preparat de la següent manera:

Com a suport s'utilitza un tub de plàstic tipus Eppendorf. Com element metàl·lic es fa servir un fil de plata d'uns 12 cm de llargària doblegat en forma d'espiral de manera que encaixi bé dintre del tub.

Aquest fil de plata es recobreix electrolíticament de AgCl. Per tal de fer això es posa dintre un vas de precipitats una solució de 9 g/l de NaCl. Aleshores s'introdueix una placa d'acer inoxidable o bé una placa de plata (en aquest cas s'utilitza la placa d'acer inoxidable) que es connecta al pol negatiu d'una font de corrent actuant com a càtode, i d'altra banda s'introdueix el fil de plata a recobrir que es connecta al pol positiu de la font actuant com a ànode. Llavors s'aplica un voltatge de 5V durant 2 min. La plata es recobreix d'una capa de AgCl de color gris mat. Sobre la placa d'acer hi ha un despreniment d'hidrogen i sobre el fil de plata un despreniment d'oxigen.

Les reaccions que tenen lloc són les següents:



El fil de plata recobert de AgCl es col·loca dintre el tub Eppendorf i s'hi posa solució de Ringer, 1,5 ml. La part del fil de plata que sobresurt del tub es connecta, mitjançant un fil conductor, al circuit compensador de la diferència de potencial.

Diàriament s'omplen els electrodes amb nova solució de Ringer, emprant-se en cada cas els mateixos fils de plata recoberts de AgCl (Ives i Janz, 1961; Valls, 1979).

3.5.3.2. Ponts d'agar-Ringer

S'empren com a connexió entre els electrodes de Ag/AgCl i la solució d'incubació.

La preparació es fa de la mateixa forma que els d'agar-KCl llevat de que en aquest cas la dissolució de l'agar es fa en medi de Ringer. Aquests ponts s'han de conservar en solució de Ringer i també s'han de refer cada tres setmanes, aproximadament.

3.5.3.3. Descripció del circuit compensador de la Dpt

El circuit que s'ha emprat permet treballar amb tres segments de teixit alhora. Conté la circuiteria necessària per mesurar la Dpt de tres cambres així com per mantenir-les en condicions de curt-circuit. En la figura 12 pot veure's un esquema del conjunt.

Per a cada una de les tres cambres hi ha un circuit per mesurar la Dpt i un altre per mesurar la intensitat del corrent que passa pel teixit.

La font de corrent necessària per administrar el corrent que ha d'anul·lar la Dpt existent, la dóna un sistema de piles que juntes proporcionen una diferència de potencial de 16 V. Aquesta font està connectada amb els circuits corresponents a cada una de les cambres per tal de poder mantenir les tres en condicions de curt-circuit. Mitjançant tres resistències variables (R) (una per cada cas) pot regular-se manualment el corrent aplicat al sistema. Dintre aquest circuit, i per cada una de les tres cambres, hi ha una derivació que condueix a una sortida comuna per a les tres on s'hi connecta l'amperímetre mesurador de la intensitat del corrent que passa quan s'ha anulat la Dpt.

En referència als circuits de mesura de la Dpt, hi ha també una derivació en cada cas que va a una sortida comuna on s'hi connectarà l'oscil·loscopi que visualitza la Dpt existent. L'oscil·loscopi registra permanentment la Dpt de la cambra connectada a ell independentment de si el circuit

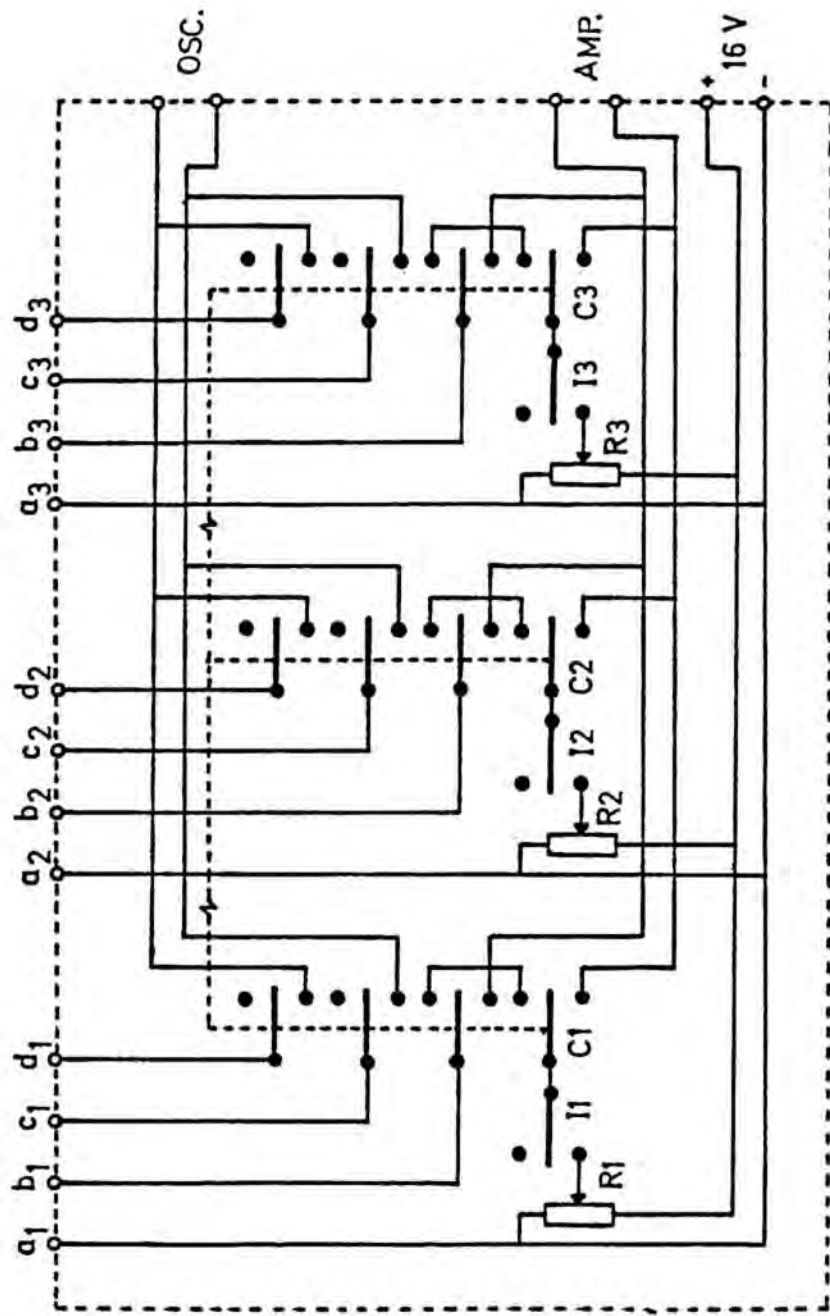


FIGURA 12: Circuit compensador de la Dpt

C: commutador. I: interruptor.

R: resistència, $R_1 = R_2 = R_3 = 20K\Omega$ lineal

compensador de la Dpt està conectat o no. Un sistema de commutadors (C) permet escollir la cambra que es vol monitoritzar en un moment donat.

Per a cada una de les cambres hi ha un interruptor (I) per poder desconectar i connectar el circuit compensador de la Dpt.

Durant l'experiment els tres interruptors estan normalment en posició de curt-circuit, i per tant els tres fragments de teixit que s'estudien estan curt-circuitats permanentment. Quan es vol prendre una mesura, s'escull primer la cambra a observar amb el commutador, es registra la mesura de l'amperímetre i aleshores es varia la posició de l'interruptor per mesurar la Dpt.

Periòdicament cal anar variant la resistència variable per tal de mantenir el teixit en condicions de curt-circuit.

3.5.4. Muntatge general

En la figura 13 es pot veure un esquema simplificat del muntatge per una de les cambres.

Abans de començar l'experiment es connecta la bomba circuladora d'aigua al compartiment que té el conjunt de cambres per tal de mantenir el teixit a la temperatura adequada. Es deixa en funcionament una estona fins que arribi a la temperatura desitjada.

Mentrestant es prepara la resta del muntatge per tenir-ho tot a punt en el moment de començar l'experiment.

Cal preparar el medi d'incubació i rentat que s'utilitzarà així com les solucions de diferents reactius que s'afegiran al medi durant l'experiment. Aquests medis i solucions es col.loquen dintre un bany per tal de que

estiguin a la temperatura a la que es vol fer l'experiment quan aquest comenci.

Es comproven els electrodes de calomelans juntament amb els ponts d'agar-KCl, i si cal es refan. Els electrodes de Ag/AgCl es preparen de nou com a cada experiment. Es connecten els fils conductors que surten dels electrodes de calomelans i dels de Ag/AgCl al circuit electrònic, així com la font de corrent. A aquest circuit s'hi connecten també els cables provinents de l'oscil·loscopi i de l'amperímetre del tester. En l'esquema, el voltímetre i l'amperímetre formen part de circuits completament separats, però a la pràctica estàn inclosos dintre el mateix conjunt com s'ha explicat a l'apartat anterior.

Quan tot està a punt, s'anestesia l'animal, s'extreu el tros de budell a estudiar, i es renta i prepara segons es vulgui. Es procedeix al seu muntatge en les cambres segons s'ha explicat.

Aleshores s'omplen immediatament ambdues cavitats amb el medi d'incubació en dues voltes, a cada una de les quals es posen 2 ml de medi a cada cavitat (el volum final de medi en cada cambra és de 4 ml). Després d'això es col·loquen els tubs per on circula el carbògen dintre els pous, a 1 cm de la base, aproximadament. A partir d'ara el teixit ja està en condicions semblants a les fisiològiques.

El següent pas és col·locar els ponts d'agar-KCl dintre els orificis més aprop del teixit. Després es connecten els electrodes de Ag/AgCl amb la solució d'incubació mitjançant els ponts de Ringer-agar que es col·loquen en els orificis més allunyats del teixit. A partir d'aquest moment l'epiteli es pot curt-circuitar i es poden començar a prendre les mesures de Dpt i Icc.

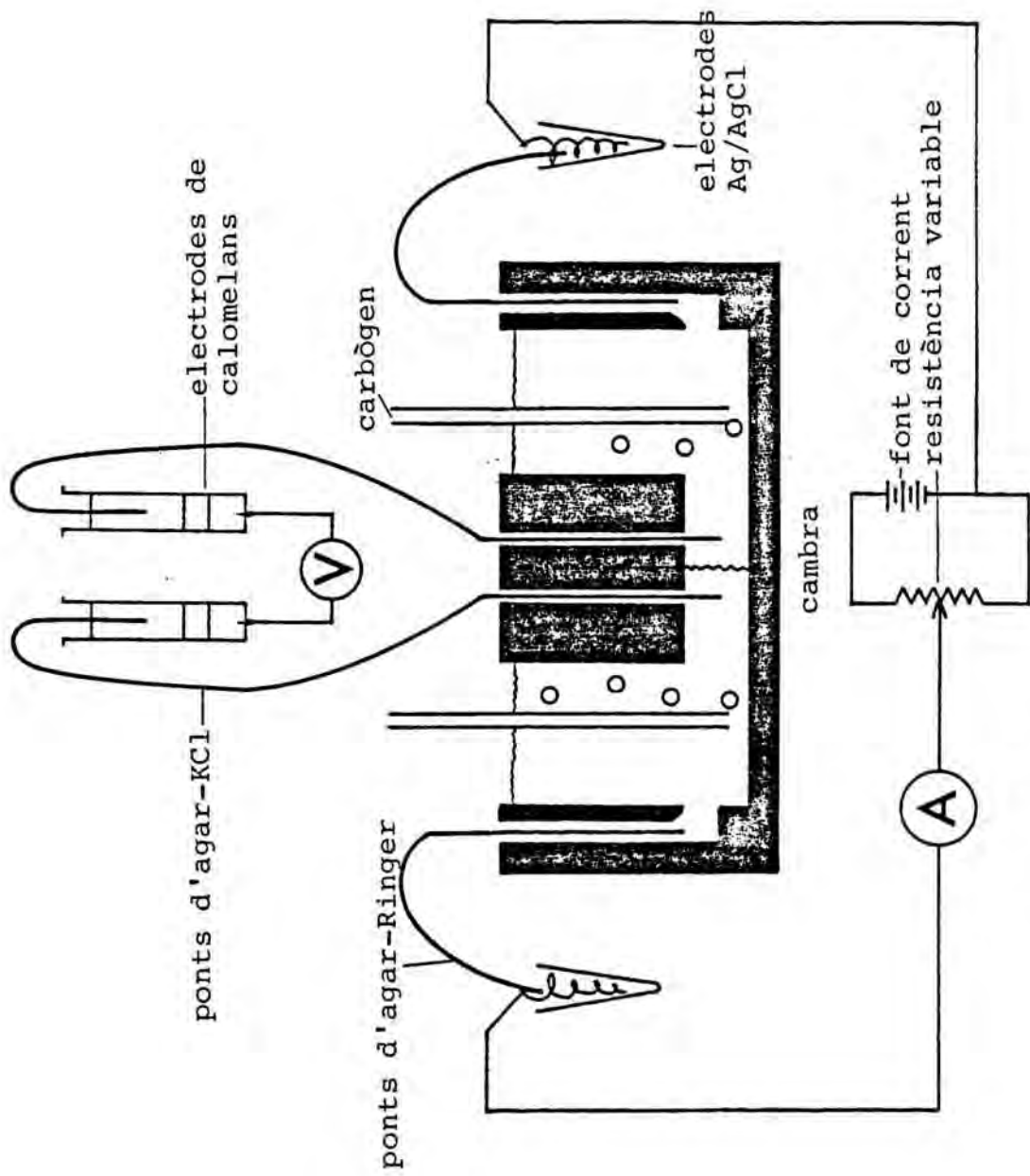


FIGURA 13: Esquema general del muntatge

3.6. OBTENCIÓ, PREPARACIÓ I MUNTATGE DEL TEIXIT

3.6.1. Anestesia de l'animal

Per obtenir el colon descendent de les rates, aquestes s'anestesien, d'aquesta manera el temps que el budell està sense reg sanguini és mínim mantinguent-se així les condicions fisiològiques el màxim temps possible (Gardner, 1978).

En aquest cas, les rates s'anestesien amb uretà administrat intraperitonealment a una dosi de 1,25 g/kg. Es parteix d'una solució de 125 g/l d'uretã en aigua destil.lada, corresponent per tant, 1 ml de solució per cada 100 g de massa corporal.

Els pollastres s'anestesien amb pentobarbital sòdic administrat intravenosament en forma de solució, a la dosi de 45 mg/kg. El pentobarbital sòdic es dissol a la concentració de 45 g/l en solució de NaCl de 9 g/l, i d'aquesta solució s'en administra 1 ml per cada kg de massa corporal.

3.6.2. Extracció i neteja del tros de budell a estudiar

En el cas de la rata s'empra la mateixa tècnica que fan servir Edmonds i Marriott (1968). S'obre l'abdomen fent una incisió lineal central i es localitza el colon descendent. Es talla en dos punts separats uns 6 cm. Aleshores es neteja el budell in situ amb la mateixa solució que es farà servir durant l'experiment, mantinguda prèviament a baixa temperatura en un bany de gel. El rentat es fa mitjançant

una xeringa. Una vegada net, es separa de l'animal i es posa sobre una pipeta d'uns 0,6 cm de diàmetre.

En el cas del pollastre no és possible emprar la mateixa tècnica que en la rata degut a la diferent morfologia general del budell. S'han fet experiments amb cec, ili i recte.

Primerament s'obre l'abdomen fent una incisió en la part central continuant la obertura en direcció transversal. Aleshores, s'aparta la nansa duodenal que queda sobre la resta dels budells.

En el cas dels segments cecals, aquests es van separant del mesenterí començant per la part distal fins arribar a la zona més estreta, que correspon a la part proximal. Per aquí es talla i s'extreu de la cavitat. Immediatament es posa dintre un vas de precipitats que conté el medi d'incubació que després s'utilitzarà, mantingut fred en un bany de gel. Allà es talla longitudinalment pel mesenterí i es renta per agitació, canviant el medi tantes vegades com faci falta fins la completa neteja del cec.

Si el que interessa és l'ili, aleshores en la zona més distal del mateix es fa un tall transversal i es va separant del mesenterí en direcció proximal fins que s'en té una quantitat suficient, uns .7 cm. Una vegada extret es posa dintre un vas amb medi d'incubació mantingut fred, s'obre longitudinalment pel mesenterí i es neteja per agitació.

Finalment, si es vol extreure el recte, es talla just des d'on convergeixen els cecs fins a on comença el coprodeum. S'extreu de la cavitat, es posa en medi d'incubació fred i es renta, ja sigui obrint-lo prèviament o bé mitjançant una xeringa. En aquest últim cas, després cal obrir-lo longitudinalment.

3.6.3. Aïllament de la mucosa

Una part dels experiments es realitzen en una preparació que reb el nom de 'mucosa aïllada'. Aquesta denominació s'aplica al teixit intestinal que queda després d'haver suprimit la capa serosal i part de les capes musculars. La tècnica emprada varia segons l'espècie animal de que es tracti.

Quan es treballa amb rates s'empra la mateixa tècnica utilitzada per Binder i Rawlins (1973). Es col·loca el colon descendent sobre una pipeta de vidre d'uns 0,6 cm de diàmetre. Aleshores amb una fulla d'afaitar es talla la capa serosal i part de les musculars. Aquest tall és millor fer-lo just a on s'uneix el mesenteri. Aleshores, amb unes pinces es van separant acuradament les capes serosals. Una vegada es té la mucosa aïllada es talla per la zona a on hi havia el mesenteri i la capa obtinguda es posa sobre un vidre porta objectes. Durant tota l'estona cal mantenir el teixit humit amb medi d'incubació.

Si l'animal d'experimentació és el pollastre, la tècnica seguida és la mateixa que empren Holtug i Skadhauge (1982). Una vegada obtingut el budell net, es col·loca obert longitudinalment sobre una superfície plana banyada amb medi d'incubació. Aleshores amb un vidre porta objectes es fa pressió sobre un extrem per fixar-lo i amb un altre es raspa la superfície amb molta cura, de forma que es separi la mucosa de les demés capes. La mucosa aïllada es col·loca després sobre un porta objectes. Durant tota l'estona cal mantenir el teixit humit amb medi d'incubació. Es procedeix de la mateixa forma en les tres zones del budell.

3.6.4. Muntatge del teixit en les cambres

Una vegada es té el teixit a estudiar, sigui el budell sencer o la part mucosal extesa sobre un porta humit, es

procedeix al muntatge en les cambres. Amb l'ajuda d'unes pinces corbes i fines es va insertant el teixit en les puntes metàl·liques d'una de les semicambres de forma que queda una capa plana en cada orifici sobre l'arandela de goma, que serveix per fixar la preparació.

Es monten tantes cambres com dongui de sí el teixit, com a màxim tres en cada experiment, tinguent cura de no estirar massa i de que la superfície de teixit exposada en cada cambra sigui la mateixa. Amb unes tisores fines es talla el teixit entre les cambres per que no hi hagi interferències elèctriques.

Seguidament es procedeix a col·locar l'altre semicambra sobre la que conté el teixit. S'ajusten bé les cambres mitjançant uns cargols i immediatament s'omplen els pous amb medi d'incubació a la temperatura adequada. Aquesta operació es fa en dues fases, posant primer 2 ml de medi a cada costat del teixit, i després la resta del volum fins a 4 ml, així s'evita un augment excessiu de la pressió en un dels costats de l'epiteli.

Aleshores s'inserten els tubs pels que circula el carbògen (o l'oxigen, en el cas de medi d'incubació sense bicarbonat) dintre els pous.

En aquest moment el budell ja està en condicions semblants a les fisiològiques. Convé que el temps de muntatge sigui el mínim possible doncs el temps en que el budell està en condicions d'anòxia pot influir en els processos d'absorció. Així, un temps superior a 15 min entre que es treu el budell de l'animal i s'inicia la incubació pot tenir conseqüències fatals (Gardner, 1978). En aquest treball el temps de muntatge oscil·la entre 2,5 i 13 min, amb una mitjana de 6,2 +/- 0,2 min.

Aleshores es col.loquen els ponts d'agar en el lloc corresponent i es comencen a prendre les mesures. Aquestes es prenen generalment cada 5 min, llevat de quan s'ha afegit alguna substància o s'ha canviat el medi, cas en que la freqüència de la mesura s'augmenta fins a 1 min.

Les cambres s'aïllen entre sí mitjançant vaselina filant, que s'introdueix amb una xeringa en la zona que separa cada cambra de la del costat. Així s'eviten les interferències entre cambres contigües degudes al pas de partícules carregades per la pel.lícula de medi que queda entre les cambres.

Les cambres contigües a les que contenen el teixit s'omplen d'aigua a la mateixa temperatura que el medi d'incubació per evitar perdues de calor. Per aquesta mateixa raó es col.loca sota les cambres una làmina d'un material aïllant.

Quan el budell està en condicions de curt-circuit, després d'observar la Icc es desconecta aquest circuit durant uns 20 s aproximadament i aleshores es mesura la Dpt.

Cada 20-25 min es controla la temperatura del medi d'incubació en cada pou per rectificar, si cal, la temperatura de l'aigua del circuit.

3.7. DETERMINACIÓ QUANTITATIVA DELS IONS SODI I POTASI DE LA DIETA

Es sap que el tipus de dieta pot influir en els paràmetres elèctrics del budell, sobretot quan la quantitat de ions com el ió sodi difereix d'una dieta a una altra. En aquest treball es fan estudis comparatius entre pollastres alimentats amb dieta rica en ió sodi i pollastres alimentats amb dieta pobre en ió sodi. S'ha considerat interessant fer una anàlisi de la quantitat de ió sodi de les dietes administrades per poder conèixer la quantitat de ió sodi ingerida. A la vegada també s'ha analitzat la quantitat de potasi.

La determinació d'aquests ions s'ha fet per fotometria de flama. Aquesta, és una tècnica ràpida per determinar metalls alcalins que necessita molt poca quantitat de mostra. El principi és el següent: mitjançant una flama s'exciten els àtoms de la mostra, aquests són portats a un nivell superior d'energia i al tornar a l'estat primitiu emeten una radiació electromagnètica característica per a cada àtom (pel ió sodi: 589 nm, pel potasi: 766 nm) que pot ésser seleccionada amb filtres interferencials. Per una mateixa temperatura de flama, la intensitat de les ratlles emeses és proporcional a la concentració del metall en la solució. La llum emesa i filtrada actua sobre una cèl.lula fotoelèctrica i finalment, la intensitat del corrent produït és proporcional a la concentració de l'element que es determina. (Guy Devaux, 1974).

Preparació de la mostra

Es segueix el mateix esquema pel pinso i per la barreja de gra. En cada cas cal preparar una mostra per a la determinació del potasi i una altra per a la del ió sodi. Es fan duplicats de cadascuna.

Es parteix de 2 g de pinso per cada una de les dues mostres i de 5 g de barreja de blat i ordi a parts iguals per cada una de les dues mostres. Les mostres s'incineren fins a cendres blanques emprant crisols de quars o de platí. Aquestes cendres es dissolen amb HCl (1 mol/l) i es fan les dissolucions necessàries fins aconseguir una concentració aproximada de ió sodi o de potasi convenient per a l'escala en que es llegirà en el fotòmetre de flama. La quantitat aproximada de ió sodi i de potasi, tant del pinso com del gra, pot obtenir-se a partir de la composició que dóna la casa comercial i la bibliografia (Chosniak i col., 1977). En totes les mostres finals s'inclou clorur de lantà a una concentració de 100 ml/l que actua evitant interferències entre el ió sodi i el potasi.

S'empren unes solucions patró per tal de delimitar els valors 0 i 100 de l'aparell, així com per veure la linealitat entre concentració de metall i valor llegit dintre l'escala que s'ha considerat. Els patrons contenen 0,1,3,5,7 o 10 mg/l de ió sodi i de potasi, 5 ml de HCl (1 mol/l) per igualar l'acidesa amb la de les mostres i 5 ml de solució de clorur de lantà. La resta, fins a 50 ml, és aigua destil·lada i desionitzada.

S'ha controlat la quantitat de pinso i gra que menjen els pollastres i s'ha vist que correspon aproximadament a 50 g/kg/dia, considerant que els pollastres fan mal bé la meitat de l'aliment que s'els hi dóna.

Els resultats que s'han obtingut són els següents:

```
*****
      Na           K           mmol Na       mmol K
      (mmol/kg)   (mmol/kg)   poll./dia  poll./dia
*****
Pinso
mostra 1   73,9       173,0       5,54       12,98
mostra 2   76,1       167,0       5,71       12,50
Gra
mostra 1    3,6       105,1       0,27       7,88
mostra 2    3,5       100,0       0,26       7,50
*****
```

3.8. CÀLCULS

3.8.1. Càlcul de la superfície de teixit exposada

Amb un peu de rei es mesura el diàmetre de les sis cambres per duplicat. Resulta un valor mig de 0,79333 +/- 0,0007 cm (n=12). Aquest diàmetre correspon a una àrea de 0,49431 cm², que coincideix amb la superfície de teixit exposada. D'aquesta manera podran obtenir-se els valors de Icc i de R referits a la unitat de superfície. La mesura obtinguda en A al llegir directament del microamperímetre cal multiplicar-la per 2,023 (1/0,4931) per obtenir el valor per cm².

3.8.2. Càlcul de la resistència del teixit a partir de la llei d'Ohm

La mucosa del còlon es comporta com una resistència òhmica (compleix la llei d'Ohm) ja que quan s'aplica un corrent d'intensitat determinada, la Dpt produïda és directament proporcional al corrent aplicat, independentment del fluxe que ja hi ha (Edmonds i Marriott, 1968; Schultz i Zalusky, 1964).

La resistència (R) del teixit pot obtenir-se de dues formes: a partir dels valors de Dpt i Icc en un moment donat, o be aplicant un fluxe de corrent d'intensitat coneguda i mesurant aleshores la Dpt (Williams i col., 1978). Aquí es fa segons el primer mètode.

Una vegada es tenen els valors de Dpt i Icc s'aplica la llei d'Ohm:

$$R = \frac{\text{Diferència de potencial}}{\text{Intensitat}}$$

Les unitats que s'obtenen són de ohm x cm².

Hi han autors que corregeixen la R obtinguda restant el valor de la R del medi. Així s'elimina la R del fluid entre els ponts i el budell. Però de fet, aquest valor és constant (en l'ili de conill correspon a un 13% de la resistència mesurada) doncs com ja s'ha dit, el teixit es comporta com una resistència linial, per tant, encara que no es consideri no s'alteren les conclusions (Schultz i Zalusky, 1964).

3.9. TRACTAMENT ESTADÍSTIC DE LES DADES

Les anàlisis estadístiques s'han portat a terme mitjançant l'anàlisi de la variança d'un model lineal (Guttman, 1982) en el que s'han tingut en compte una sèrie de causes de variació. Els càlculs s'han fet en un microordinador Sharp MZ-80B amb un programa (ANAMOLI, C, 15, 5), dissenyat per un dels directors d'aquest treball (Dr. Antoni Diez Noguera).

Tot seguit es definiran els diferents termes que s'utilitzaran en aquest apartat i en el capítol de resultats al tractar cada un dels models lineals utilitzats.

1. Es considerarà que el valor de cada determinació experimental és funció d'una sèrie de 'factors'. Així, el valor de la Dpt i Icc mesurat en un moment determinat depèn de tots els factors que intervenen en la determinació d'aquests paràmetres, així com dels específics de l'epiteli que s'estudia. Del conjunt d'aquests factors n'hi ha una part que es pot determinar (per exemple la temperatura, la zona del budell que s'estudia, el tipus de preparació, etc.), però també n'hi ha una part que no es pot determinar i, per tant, aquests factors no són considerats. Es tenen doncs, dues situacions:

- La situació real, que no es pot conèixer totalment (part determinista i no determinista).

- La situació que es considera i que inclou els factors que d'una manera o altra l'experimentador pot controlar i quantificar (part determinista).

2. A partir dels factors es defineixen les 'variants' com les diferents opcions possibles de cada factor. Segons això es tenen dos tipus de factors:

- Els quantitativs. Són els que poden prendre diferents valors numèrics. És el cas de la temperatura del medi d'incubació, per posar un exemple. Es consideren com a factors amb una sola variant que pot prendre molts valors diferents.

- Els qualitativs. Són factors del tipus 'tot o res', com ara l'absència o presència d'un determinat component del medi d'incubació, zona del budell que s'estudia, etc. Són factors que no prenen valors numèrics; tenen un nombre conegut d'opcions, en general força petit. Els factors qualitativs solen generar més d'una variant.

En els models lineals, quan es parli d'aquestes variants, es representaran per la lletra Z amb un número.

3. Les variants poden intervenir en el valor de la resposta observada per elles mateixes o bé interactuant amb d'altres. Així, per exemple, és possible que el tractament amb una determinada substància tingui un cert efecte sobre els valors de Dpt i Icc, però que aquesta substància també influeixi produint un canvi en la variació de la resposta al llarg del temps. Es té aquí un cas d'interacció. Són 'variables' totes les variants i interaccions entre variants que tenen efecte en la resposta obtinguda.

Les variables es representaran per la lletra X amb un número.

Un exemple podria ser el següent:

Es pot considerar que un factor de variació de la Dpt és la zona del budell estudiada. Hi ha tres possibles variants per aquest factor: ili, cec i recte (Z(1), Z(2) i Z(3)), que són les tres zones amb les que s'han fet experiments. La diferència en la resposta obtinguda entre

les zones ve definida per dues variables: diferència entre la Dpt al recte i a l'ili, i diferència entre la Dpt al cec i a l'ili ($X(1)=Z(3)-Z(1)$ i $X(2)=Z(2)-Z(1)$, respectivament).

D'aquesta manera es pot aconseguir una equació lineal que relacioni totes les variables amb efecte sobre la resposta objecte de l'anàlisi. Aquesta equació és del tipus

$$y = b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_px_p + \epsilon$$

on 'y' és la resposta observada

$x_1 \dots x_p$ són les variables que influeixen en la resposta

$b_1 \dots b_p$ són les estimacions dels paràmetres de la regressió. Aquestes estimacions indiquen com afecta la variable corresponent a la resposta observada.

ϵ és l'error de la regressió, i inclou tots els factors no determinats en el model.

Per a la totalitat de les respostes observades es tindran tantes equacions com nombre d'observacions. En cada equació els valors de les 'b' coincidiran amb els de les altres equacions. El sistema es pot reduir a una equació on els termes són matrius:

$$Y = XB + E$$

Y és un vector amb 'n' components, sent 'n' el nombre de respostes observades

X és una matriu de 'n' files i 'p' columnes construïda a partir de les variables independents (les variables del model)

B és un vector de 'p' components format per les estimacions dels paràmetres de la regressió

E és un vector de 'n' components que són els errors de la regressió

L'obtenció dels valors de les 'b' es fa pel mètode dels mínims quadrats. La fórmula que s'empra per a fer-ho és:

$$B = (X^T X)^{-1} X^T Y \quad (\text{Jackson, 1984})$$

Amb el superíndex '-1' s'indica la inversa d'una matriu, i amb el superíndex 'T' s'indica la matriu transposada.

Un cop obtingudes les estimacions 'b', el programa inicia una cerca de les variables que influeixen de forma significativa en la definició del model. Per tal de fer això, primerament s'agrupen les variables en conjunts d'uns, dues o més, que s'anomenaran 'causes de variació'. Normalment cada causa de variació correspon a un factor o alguna interacció entre ells. A partir d'aquí, i de forma automàtica, s'estudia la contribució de cada causa en el model, eliminant-ne aquelles que no siguin significatives al aplicar la prova F de Snedecor. Realitzen aquesta operació tants cops com calgui s'obté finalment un nombre de causes amb les estimacions dels paràmetres (b) corresponents, que permeten definir el model lineal definitiu. Aquest procediment de selecció correspon al mètode 'backward' d'entre els molts que s'han descrit a aquesta fi. S'ha utilitzat aquest mètode ja que es força conservador, és a dir, que respecte els altres és més exigent a l'hora de triar les variables com a significatives.

El coneixement del vector de paràmetres B permet fer prediccions de possibles situacions experimentals a partir del model lineal, simplement substituint els valors $X(1) \dots X(p)$ pels corresponents a la situació (real o imaginària) que es vol estimar. De forma una mica més complexa, també s'obtenen els límits fiducials de l'estimació corresponent. En aquest cas, els límits s'han calculat per a una probabilitat del 95%.

Finalment, el model lineal calculat permet avaluar el grau de certesa de les hipòtesis lineals que interressi estudiar. En aquest treball, sempre s'han plantejat hipòtesis nul·les de la següent manera:

Es tracta de definir un vector de coeficients $H' = h_1, h_2, h_3, \dots$, de tal manera que al multiplicar-lo pel vector de paràmetres dongui zero únicament si es compleix la hipòtesi que es vol provar. En termes algebràics serà:

$$H_0: H' \cdot B = 0$$

Desenvolupant això es té

$$H_0: b_1 h_1 + b_2 h_2 + b_3 h_3 + \dots + b_p h_p = 0 \quad (a)$$

Suposant que b_2 i b_3 fossin els paràmetres corresponents als efectes de dos tractaments diferents, la manera de plantejar H' per tal de veure si els efectes són diferents seria

$$H' = (0, 1, -1, 0, \dots, 0)$$

D'aquesta manera l'expressió (a) valdrà zero únicament en el cas de que b sigui exactament igual que b . El rebuig o l'acceptació de la hipòtesi es fa aplicant una prova F de Snedecor, plantejada amb la fórmula

$$F = \frac{(H^T B)^T (H^T (X^T X)^{-1} H)^{-1} (H^T B)}{S^2}$$

on B és el vector de paràmetres

H és el vector de la hipòtesi

X és la matriu de disseny del model

S^2 és l'estimació de l'error residual,

que es calcula: $S^2 = Y^T Y - B^T X^T Y$

on Y és el vector de respostes

La hipòtesis H_0 es rebutja a un nivell de risc $\alpha = 0,05$
si

$$F > F(1, n-p, 0,05)$$

4. RESULTATS

4.1. PARÀMETRES ELÈCTRICS DEL CÒLON DE RATA

Els primers experiments que s'han fet tenien com a objectiu la posta a punt de la tècnica per a la mesura dels paràmetres elèctrics del budell.

S'ha estudiat la Dpt en el còlon de rata emprant diferents medis d'incubació per tal d'escollir aquell amb el que s'obtingués una Dpt més estable al llarg del temps.

El primer medi d'incubació provat ha sigut el de Krebs-Henseleit amb el que també s'han fet alguns experiments afegint-hi glucosa. Aquest medi l'han utilitzat Edmonds i Marriott (1968) en el còlon de rata. Els valors obtinguts es mostren en les taules II i III. S'observa una devallada de la Dpt força ràpida i amb uns valors molt petits a partir dels 45 min del començament de l'experiment. El baix nombre d'experiments realitzats explica l'elevat error típic, encara que no deixa dubte de la poca resposta que dóna el teixit en aquestes condicions experimentals.

També s'ha provat el medi Krebs-fosfats emprat per Holtug i Skadhauge (1982) en el coprodeum de la gallina. Els resultats obtinguts es mostren en la taula IV.

També s'ha provat el medi Krebs-fosfats emprat per Holtug i Skadhauge (1982) en el coprodeum de la gallina. Els resultats obtinguts es mostren en la taula IV. Degut als baixos valors de Dpt obtinguts, s'ha cregut convenient assajar medis de cultiu de teixits, enriquits amb diferents substrats i vitamines. Així s'han fet experiments amb el medi Leibovitz-L15, emprat per Beall i col. (1983) en jejú de rata, i amb el medi 199-modificat, similar a l'anterior. En les taules V i VI es mostren els resultats obtinguts. Tant en el cas del budell sencer com en el de la mucosa

TAULA II

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Krebs-Henseleit
 PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer
 TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 37°C

Catbra	to	Expressió	Temps (min)															
			0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
080314	8,0	M	5,0		4,0		2,7		1,1									0,3
		P	100,0		80,0		54,0		22,0									10,0
080324	7,0	M	9,0		6,5		2,2		1,5									0,7
		P	100,0		72,2		24,4		16,7									12,2

VALORS MESURATS

mitjana	7,0	5,2	2,4	1,3	0,8	0,5
error	2,0	1,3	0,3	0,2	0,3	0,2
n	2	2	2	2	2	2

PERCENTATGES

mitjana	100,0	76,1	39,2	19,3	11,1	6,9
error	0,0	3,9	14,8	2,7	1,1	0,9
n	2	2	2	2	2	2

to: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.

M : Valors mesurats de la DP expressats en mV.

F : Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

TAULA III

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Krebs-Henseleit amb 10mM de glucosa
 PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer
 TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 37°C

Càmbra	to	Expressió	Temps (min)															
			0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
080313	8,0	M	3,7	2,6	1,5	1,2	0,7	0,6										
		P	100,0	70,3	40,5	32,4	18,9	16,2										
080323	7,0	M	12,5	6,5	1,5	0,5	0,4	0,3										
		P	100,0	52,0	12,0	4,0	3,2	2,4										

VALORS MESURATS

mitjana	8,1	4,5	1,5	0,8	0,5	0,4
error	4,4	2,0	0,0	0,4	0,2	0,2
n	2	2	2	2	2	2

PERCENTATGES

mitjana	100,0	61,1	26,2	18,2	11,0	9,3
error	0,0	9,2	14,3	14,2	7,8	6,9
n	2	2	2	2	2	2

to: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.

M : Valors mesurats de la DP expressats en mV.

P : Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

TAULA IV

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Krebs-fosfat
 PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer
 TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 31°C

Zona	Càmbra to	Expressió	Temps (min)															
			0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
Proximal	110514	M	4,6	6,0	4,7	4,2	4,2	-----	3,5	3,5	2,7	2,5	2,3	2,3	2,1	2,0	1,9	1,7
		P	100,0	130,4	102,2	91,3	91,3	-----	76,1	76,1	58,7	54,3	50,0	50,0	45,6	43,5	41,3	37,0
Distal	110524	M	18,5	19,7	17,7	16,2	16,2	-----	14,7	13,7	13,5	12,7	12,5	12,2	12,0	10,7	10,7	10,0
		P	100,0	106,5	95,7	87,6	87,6	-----	79,5	74,0	73,0	68,8	67,6	65,9	64,9	57,8	57,8	54,0

VALORS MESURATS ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL

Mitjana	11,5	12,8	11,2	10,2	10,2	-----	9,1	8,6	8,1	7,6	7,4	7,2	7,0	6,3	6,3	5,8
Error	6,9	6,9	6,5	6,0	6,0	-----	5,6	5,1	5,4	5,1	5,1	4,9	4,9	4,3	4,4	4,1
n	2	2	2	2	2	-----	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

PERCENTATGES ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL

Mitjana	100,0	118,4	98,9	89,4	89,4	-----	77,8	75,0	65,8	61,5	58,8	57,9	55,2	50,6	49,5	45,5
Error	0,0	12,0	3,3	1,9	1,9	-----	1,7	1,1	7,2	7,3	8,8	8,0	9,7	7,2	8,3	8,5
n	2	2	2	2	2	-----	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

to: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.

M : Valors mesurats de la DP expressats en mV.

P : Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

TAULA V

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Leibovitz-LIS
TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 31°C

Preparació del teixit	Cabra (min)	to (min)	Expressió dels resultats	Temps (min)																
				0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	
Mucosa aïllada	040713	11,0	M	1.0	0.9	0.7	0.5	0.5	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
			P	100.0	95.0	75.0	55.0	50.0	45.0	40.0	33.0	30.0	33.0	33.0	25.0	25.0	23.0	21.0	18.0	18.0
	060713	12,5	M	0.7	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.5	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2
			P	100.0	90.7	64.0	64.0	64.0	64.0	60.0	64.0	46.7	50.7	44.0	44.0	40.0	37.3	37.3	33.3	33.3
	060724	9,5	M	3.6	1.7	1.2	0.9	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
			P	100.0	48.6	33.3	26.4	20.8	17.5	13.9	11.9	9.7	9.2	7.8	7.8	6.9	5.5	5.6	5.6	5.6
	090723	9,0	M	2.8	2.2	1.7	1.4	1.2	1.0	0.6	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	
			P	100.0	80.4	60.7	51.8	42.9	35.0	23.2	18.9	17.1	15.4	15.4	13.6	11.8	12.5	10.7	10.7	

VALORS MESURATS

mitjana	2.0	1.4	1.0	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
error	0.7	0.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

PERCENTATGES

mitjana	100.0	78.7	58.2	49.3	44.4	40.4	34.3	31.9	25.9	27.1	23.0	22.6	20.4	19.2	18.3	16.9	16.9
error	0.0	10.5	8.9	8.1	9.0	9.7	10.1	11.5	8.1	9.3	7.8	8.0	7.3	6.3	6.8	6.0	6.0
n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

Intestí sencer	090734	4,5	M	3.6	2.8	1.6	1.1	0.9	0.7	0.6	0.6	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2
			P	100.0	77.8	45.8	31.9	26.4	20.8	18.1	16.1	12.5	11.1	9.7	9.2	8.3	7.8	6.9

to: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.

M: Valors mesurats de la DP expressats en mV.

P: Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

TAULA VI

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : 199-modificat
 TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 31°C

Preparació del teixit	Caebra (min)	to (min)	Expressió dels resultats	Temps (min)																
				0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	
Intestí sencer	030734	5,5	M	3.5	3.0	2.2	1.4	-----	-----	0.5	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	
			P	100.0	84.5	62.0	40.8	-----	-----	15.5	14.1	10.7	9.9	7.9	7.9	7.9	7.0	7.0	6.5	5.1
Mucosa aïllada	030743	13,0	M	1.6	1.5	0.9	0.6	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3
			P	100.0	96.9	58.1	37.5	26.9	21.9	21.9	21.9	18.8	18.8	18.8	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	15.6

to: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.

M : Valors mesurats de la DP expressats en mV.

P : Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

aïllada els valors de la Dpt inicial són molt baixos i molt aviat es tenen valors que gairebé escapen de la sensibilitat de l'aparell de mesura emprat.

Finalment s'ha provat el medi Ringer, utilitzat per molts científics en experiments similars amb diferents espècies animals (Binder i Rawlins, 1973; Bolaños i Lorenzo, 1984; Field i col., 1971; Simmons i Naftalin, 1976; Thompson i col., 1982). El comportament del còlon descendent de la rata observat al utilitzar aquest medi d'incubació ha sigut lo suficientment satisfactori com per considerar-lo adequat per fer l'estudi dels paràmetres elèctrics de la rata en diferents condicions.

4.1.1. Descripció del model inicial

S'ha estudiat la variació de la Dpt a lo llarg del temps i la contribució a aquesta Dpt dels següents factors: temps de muntatge, temperatura a la que es fa l'experiment, zona del còlon descendent que s'utilitza i addició de substrats metabolitzables com la glucosa i l'àcid β -hidròxibutíric.

Com ja s'ha esmentat en un dels apartats de 'material i mètodes', les dades obtingudes en els experiments fets en les diferents condicions s'han tractat estadísticament totes alhora, per tal de quantificar la contribució que cada un dels factors considerats té sobre la Dpt.

Els factors que es consideren, amb les variants (Z) que resulten en cada cas, s'especifiquen tot seguit:

Factors Definició

- 1 - Temps transcorregut des de la primera mesura de la Dpt Z(1)
- 2 - Temps de muntatge del budell en les cambres Z(2)
- 3 - Medis emprats. Aquest factor genera tres variants
 - Ringer Z(3)
 - Ringer amb glucosa Z(4)
 - Ringer amb glucosa i amb àcid β -hidròxibutíric Z(5)
- 4 - Temperatura a la que es fa l'experiment Z(6)
- 5 - Zona del còlon descendent. Aquest factor genera dues variants
 - Proximal Z(7)
 - Distal Z(8)
- 6 - Constant. Conté tota la variació residual deguda als factors que no es consideren i a l'atzar Z(9)

A partir d'aquí s'ha dissenyat la matriu del model considerant les possibles interaccions que s'ha pensat que podien afectar la Dpt. Aquestes interaccions, juntament amb les variants que es consideren individualment, són les variables del model que s'assaja. Les variables es representen per la lletra X.

```
*****
Variable      Definició
*****
```

X(1)	- Constant Z(9) (K)
X(2)	- Temps Z(1) (t)
X(3)	- Temps de muntatge Z(2) (tm)
X(4) X(5)	- Diferències entre els medis - X(4) diferència entre el medi Ringer (Rg) i el medi Ringer amb glucosa i amb àcid β-hidroxibutíric (RgGB) Z(3)-Z(5) (Rg-RgGB) - X(5) diferència entre el medi Ringer amb glucosa (RgG) i el medi RgGB Z(4)-Z(5) (Rg-RgGB)
X(6)	- Temperatura Z(6) (T°)
X(7)	- Diferència entre les zones proximal (P) i distal (D) Z(7)-Z(8) (P-D)
X(8)	- Quadrats del temps Z(1).Z(1) (t ²)
X(9)	- Cub del temps X(8).Z(1) (t ³)
X(10)	- Quadrats de la temperatura Z(6).Z(6) (T° ²)
X(11) X(12)	- Interacció del temps amb els diferents medis - X(11)=Z(1).X(4) (t.(Rg-RgGB)) - X(12)=Z(1).X(5) (t.(RgG-RgGB))
X(13)	- Interacció entre el temps i la temperatura Z(1).Z(6) (t.T°)
X(14)	- Interacció entre el temps i la zona del còlon Z(1).Z(7) (t.(P-D))
X(15) X(16)	- Interacció entre el medi emprat i la zona del còlon - X(15)=X(4).X(7) ((Rg-RgGB) (P-D)) - X(16)=X(5).X(7) ((RgG-RgGB) (P-D))
X(17)	- Interacció entre la temperatura i la zona del còlon Z(6).X(7) (T°.(P-D))
X(18)	- Interacció entre el temps i el temps de muntatge Z(1).Z(2) (t.tm)
X(19) X(20)	- Interacció del temps de muntatge amb els

diferents medis

- X(19)=Z(2).X(4) (tm.(Rg-RgGB))

- X(20)=Z(2).X(5) (tm.(RgG-RgGB))

X(21) - Interacció entre el temps de muntatge i la temperatura Z(2).Z(6) (tm.Tº)

X(22) - Interacció entre el temps de muntatge i la zona del còlon Z(2).X(7) (tm.(P-D))

Amb aquestes variables el programa de l'ordinador fa una primera anàlisi on les considera conjuntament i dóna els valors estimats b que són els coeficients de l'equació general.

Seguidament es mostren els resultats tal com surten de l'ordinador.

ANAMOLI v.C.15.5

Arxius: RATA-1L, RATA-2L, RATA-3L, RATA-4L, RATA-5L, RATA-6L, RATA-7L, RATA-8L, RATA-9L,

Origen:

Y + Z(0)

X(1) + Z(9)

X(2) + Z(1)

X(3) + Z(2)

X(4) + Z(3)-Z(5)

X(5) + Z(4)-Z(5)

X(6) + Z(6)

X(7) + Z(7)-Z(8)

X(8) + Z(1)*Z(1)

X(9) + X(8)*Z(1)

X(10) + Z(6)*Z(6)

X(11) + Z(1)*X(4)

X(12) + Z(1)*X(5)

X(13) + Z(1)*Z(6)

X(14) + Z(1)*X(7)

X(15) + X(4)*X(7)

X(16) + X(5)*X(7)

X(17) + Z(6)*X(7)

X(18) + Z(2)*Z(1)

X(19) + Z(2)*X(4)

X(20) + Z(2)*X(5)

X(21) + Z(2)*Z(6)

X(22) + Z(2)*X(7)

DE RESTRICCIONS= 0

Mitjana d'Y = 6.70686274509804

ANÀLISI DE LA VARIANCA

Causa	g.l.	S.Q.	Variança	F	R2 (% total)
SQ(Y)	918	69514.39			
SQ(bo)	1	41293.4832352941			
SQ(Ylbo)	917	28220.9067647059			
SQ(error)	896	11487.13173006355	12.8204595201602		
SQ(R)	22	58027.25826993645	2637.602648633475	205.733861917027	83.4751743774727
SQ(Rlbo)	21	16733.7750346424	796.846430221067	62.1542799591562	59.2956674785882

t(p=0.05 | v= 896)= 1.96261113088735

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y+x)
b(1)	1	85.3086099627469	11.32170134367288	107.5287070404216 63.08851288507224	0
b(2)	36.0239651416122	-0.4406794108293275	0.08265511339946796	-0.2784595652467755 -0.6028992564118795	-0.4726850223407598
b(3)	5.48671023965142	1.807287164718603	1.332246938262458	4.421969834843095 -0.807395505405889	-0.0761824829210936
b(4)	-0.39760348583878	0.605667050875175	1.935721227425675	4.404735078115728 -3.193400976365378	-0.1182091647731777
b(5)	-0.0697167755991285	-1.312308273964791	1.28259528194052	1.204927502795272 -3.829544050724854	-0.01268198527099922
b(6)	31.3006535947712	-3.832114805790441	0.5819635138528754	-2.689946735732473 -4.974282875848409	-0.4908921513844145
b(7)	0.0740740740740741	-1.11296366012902	1.715323789117851	2.25354990146954 -4.47947722172758	0.00952892507679709
b(8)	1802.6688453159	0.001882805747919466	0.001429880827080108	0.004689105774989296 -0.000923494279150364	-0.412302777388711
b(9)	101781.3180827887	-0.000002886312394379437	0.00001270204028325415	0.00002204285325051466 -0.00002781547803927354	-0.360614097196572
b(10)	991.483660130719	0.05039701426048054	0.008679100849153972	0.06743071419312398 0.0333633143278371	-0.4743396173018583
b(11)	-14.8039215686275	-0.02329684116612325	0.0149590491666231	0.00606195523578238 -0.05265563756802888	0.02930206884242644
b(12)	-3.42047930283224	-0.01042499760288873	0.009119877737100483	0.00747377595627642 -0.02832377116205388	-0.01282079193006466
b(13)	1122.69063180828	0.004372398297963017	0.001960221591637882	0.008219551012717242 0.000525245583208792	-0.551271964360069
b(14)	2.60348583877996	-0.005259289845742071	0.005589697697862749	0.00571111307437976 -0.0162296927658629	-0.01808430913570351
b(15)	-0.0468409586056645	0.106463378884225	0.3869644795139664	0.8659241736363654 -0.6529974158679154	-0.0848558778656705
b(16)	-0.0196078431372549	-0.999907371695561	0.2154269177145812	-0.4771081050961707 -1.322706638294951	-0.1596370139840093
b(17)	2.37472766884532	0.0872600953537822	0.04230134251125256	0.1702811810178447 0.00423900968971968	0.01010473422636493
b(18)	197.540849673203	0.008513281961215623	0.004609523057217645	0.01755998322159296 -0.000533419298961614	-0.456470566588564
b(19)	-2.04531590413943	0.2294104739382669	0.3098122430088724	0.8374514305526565 -0.3786304826761227	-0.1064255485452759
b(20)	-0.286928104575163	0.2782147380235075	0.214206619673185	0.6986190341038536 -0.1421895580568386	0.000736243481057334
b(21)	172.072331154684	-0.0701452879304061	0.04009336480466856	0.00854239610996354 -0.1488329719707757	-0.2946140389612535
b(22)	0.38562091503268	-0.232440096670374	0.1432622817851957	0.0487280521975711 -0.5136082455383191	-0.00492386800132592

$Z(0)$ és la resposta observada Y , és a dir, la Dpt. Les variables contribuirán en part, o no contribuirán, a aquesta Dpt.

Per fer aquest estudi s'han fet servir els resultats obtinguts en 35 experiments (corresponents a 63 cambres) que s'han agrupat en 9 arxius per facilitar l'entrada de dades.

En aquesta primera anàlisis s'observen variables que no influeixen significativament en el model general, doncs l'interval dels límits fiducials que dóna per la 'b' conté el valor zero. Amb aquesta informació no es poden treure conclusions encara.

4.1.2. Descripció del model final

El model inicial descrit es modifica una mica transformant les variables en causes. Moltes de les variables que es volen estudiar són causes (presumiblement) per elles mateixes, però n'hi han d'altres que només ho són parcialment de tal forma que una causa ve definida per dues variables. Així, per exemple, la causa 4 ve definida per les variables $X(4)$ i $X(5)$. Es pot deduir fàcilment que la causa 4 és l'efecte dels diferents medis.

Amb el model inicial, el programa de l'ordinador fa successives anàlisis de la significació de cada causa en el valor de la Dpt, aplicant el test estadístic de la F de Snedecor. Comença amb el conjunt de totes elles i s'obtenen uns nivells de significació per a cadascuna. Aleshores, la causa menys significativa és eliminada del model, i amb la resta es fa una nova anàlisi. Això ho va fer fins que s'arriba a un model on totes les causes són significatives. Aquest és el model final.

De tota la informació que dóna, els paràmetres que interessin són els següents:

- les estimacions 'b'
- els límits fiducials
- els nivells de significació per a cada causa, que venen donats en la última columna de la última tria feta

Per un millor seguiment del procés, s'ha considerat convenient adjuntar els resultats de cada anàlisi, on poden observar-se totes les passes que l'ordinador fa fins obtenir el model final, així com l'expressió d'aquest últim.

MODEL INICIAL:

Causa # 1: X(1)
 Causa # 2: X(2)
 Causa # 3: X(3)
 Causa # 4: X(4) X(5)
 Causa # 5: X(6)
 Causa # 6: X(7)
 Causa # 7: X(8)
 Causa # 8: X(9)
 Causa # 9: X(10)
 Causa # 10: X(11) X(12)
 Causa # 11: X(13)
 Causa # 12: X(14)
 Causa # 13: X(15) X(16)
 Causa # 14: X(17)
 Causa # 15: X(18)
 Causa # 16: X(19) X(20)
 Causa # 17: X(21)
 Causa # 18: X(22)

Causas	g.l.	S. de quadrats	Variança	Contrast F	Significació
##Error##	895	11487.13173006362	12.8204595201603		
Causa # 2	1	364.4262565364098	364.4262565364098	28.42536618623895	0.000000123324492
Causa # 3	1	23.59328743049259	23.59328743049259	1.840294070426018	0.173259353161841
Causa # 4	2	24.17950485671357	12.08975242835679	0.943004609885124	0.3898420876536087
Causa # 5	1	555.890305250843	555.890305250843	43.35962407405912	0.000000000077514
Causa # 6	1	5.397259989195567	5.397259989195567	0.4209880293844633	0.516610710467824
Causa # 7	1	22.2287446515352	22.2287446515352	1.733849291172464	0.188256739461916
Causa # 8	1	0.6619775922340317	0.6619775922340317	0.05163446686080677	0.82029503653772
Causa # 9	1	432.278601291441	432.278601291441	33.71787108033676	0.000000008842035
Causa # 10	2	216.2781953222451	108.1390976611226	8.43488468498909	0.000234873834218506
Causa # 11	1	63.78707499706407	63.78707499706407	4.975412534687876	0.025956973368906
Causa # 12	1	11.34961583564781	11.34961583564781	0.885273715641817	0.347014899391278
Causa # 13	2	510.6692390566531	255.3346195283266	19.91618312329682	0.000000003445336179896202
Causa # 14	1	54.55400720852912	54.55400720852912	4.25523025307653	0.03941733042927
Causa # 15	1	43.73062088021169	43.73062088021169	3.411002609652552	0.065092651312795
Causa # 16	2	136.3460840200644	68.1730420100322	5.317519383983813	0.005060910605134623
Causa # 17	1	39.24240223857007	39.24240223857007	3.060920100161955	0.080538589501129
Causa # 18	1	33.74908155549341	33.74908155549341	2.632439305504038	0.105052523667361

cal treure la causa # 8 (p > 0.002941176470588235)

##Error##	897	11487.79370793236	12.8069049139714		
Causa # 2	1	429.0766830176193	429.0766830176193	33.50354249523067	0.000000009997497
Causa # 3	1	23.58397050499186	23.58397050499186	1.841496494540502	0.175117017621364
Causa # 4	2	24.21629504329021	12.10814792164511	0.945439042686731	0.388895757429096
Causa # 5	1	558.0305237736618	558.0305237736618	43.57262957148149	0.00000000094236
Causa # 6	1	5.400180781979635	5.400180781979635	0.4216616597261085	0.516275303653257
Causa # 7	1	470.3911781170122	470.3911781170122	36.72949719520832	0.000000002270585
Causa # 9	1	434.003944459003	434.003944459003	33.88827725155797	0.000000008302241
Causa # 10	2	216.1144350450413	108.0572175225207	8.43741858383271	0.0002342701716366661
Causa # 11	1	65.06697598793966	65.06697598793966	5.080616778606386	0.024433398174302
Causa # 12	1	11.36820529627076	11.36820529627076	0.887662192593378	0.346365287106871
Causa # 13	2	510.5730115782904	255.2865057891452	19.93350520707359	0.000000003387284513866373
Causa # 14	1	54.57206294857228	54.57206294857228	4.261143751371039	0.039280699835002
Causa # 15	1	43.82972356657204	43.82972356657204	3.422350978709697	0.064648078846382
Causa # 16	2	136.1586406740239	68.079320337012	5.315829296330796	0.005069195281727373
Causa # 17	1	39.26675073143056	39.26675073143056	3.066060925352339	0.080284766043417
Causa # 18	1	33.74740660561726	33.74740660561726	2.63509464873135	0.104877184308322

cal treure la causa # 6 (p > 0.003125)

##Error##	898	11493.19388827932	12.7986568911796		
Causa # 2	1	428.50872587442	428.50872587442	33.48075735741722	0.000000009937377
Causa # 3	1	21.2440080820836	21.2440080820836	1.65986230138916	0.197953762670094
Causa # 4	2	23.69083705940596	11.84541852970298	0.925520437841133	0.3967028122550163
Causa # 5	1	575.4408292817645	575.4408292817645	44.96103256571702	0.00000000035503
Causa # 7	1	469.9375027249452	469.9375027249452	36.71772020459508	0.000000002006931
Causa # 9	1	441.9122882846736	441.9122882846736	34.52802056044057	0.000000005916421
Causa # 10	2	215.7018967095914	107.8509483547957	8.42673956117403	0.000236718338723485
Causa # 11	1	65.1856233651273	65.1856233651273	5.093161252728872	0.024260022695828
Causa # 12	1	14.80161538110416	14.80161538110416	1.156497553372568	0.28248195059636
Causa # 13	2	509.0565346905966	254.5282673452983	19.8871076480463	0.00000000339518106475382
Causa # 14	1	115.9947517365687	115.9947517365687	9.06304096772126	0.002681252016314
Causa # 15	1	43.21739199999375	43.21739199999375	3.376713069773572	0.066454042115945
Causa # 16	2	133.2351138804204	66.6175569402102	5.205042803055433	0.00565562774755362
Causa # 17	1	36.2191262387835	36.2191262387835	2.829916181575623	0.092870839391747
Causa # 18	1	74.08821661821306	74.08821661821306	5.788749338946038	0.016330250442786

cal treure la causa # 4 (p > 0.003333333333333333)

##Error##	900	11516.88472430369	12.7965385825597		
Causa # 2	1	440.957477961989	440.957477961989	34.45912151298215	0.00000000611705
Causa # 3	1	35.16140327091321	35.16140327091321	2.747727679955141	0.097741242324512
Causa # 5	1	586.6965834377464	586.6965834377464	45.84806896431747	0.0000000002304
Causa # 7	1	470.0735353087818	470.0735353087818	36.73442878916032	0.000000001988815
Causa # 9	1	459.5970089082415	459.5970089082415	35.91572876860799	0.000000002978119
Causa # 10	2	272.3621007963468	136.1810503981734	10.64202241251189	0.00002704156209526038
Causa # 11	1	68.02689591949957	68.02689591949957	5.316038824140529	0.021356572032141
Causa # 12	1	14.74750243150092	14.74750243150092	1.152460279500909	0.283322462629759
Causa # 13	2	505.6383352430768	252.8191676215384	19.75684017911716	0.00000000400618053917769
Causa # 14	1	123.5585943979207	123.5585943979207	9.65562629306004	0.001946972222621
Causa # 15	1	42.17787544198406	42.17787544198406	3.296037844129814	0.069779891322263
Causa # 16	2	439.921257285138	219.9606128642569	17.18907120430516	0.00000004719842267147046
Causa # 17	1	55.69370830968988	55.69370830968988	4.352247910665029	0.037241184373443
Causa # 18	1	79.50352185298615	79.50352185298615	6.212892755337828	0.012861149703223

cal treure la causa # 12 (p > 0.003571428571428571)

##Error##	901	11531.63222787208	12.7987039155073		
Causa # 2	1	437.5820614096562	437.5820614096562	34.18956046631163	0.000000007170584
Causa # 3	1	33.65288855307493	33.65288855307493	2.629398162129531	0.105251330988822
Causa # 5	1	588.2579309018228	588.2579309018228	45.96230483846662	0.00000000054892
Causa # 7	1	470.3458936532796	470.3458936532796	36.74949407052023	0.000000002242071
Causa # 9	1	460.138423144283	460.138423144283	35.95195468087712	0.000000003163379
Causa # 10	2	267.9048171813629	133.9524085906815	10.46609168201639	0.00003210921689765217
Causa # 11	1	65.60254849032606	65.60254849032606	5.125718113600551	0.023810831814748
Causa # 13	2	496.3775635275931	248.1887817637966	19.39171211415271	0.000000005682024712311491
Causa # 14	1	112.5755808377597	112.5755808377597	8.7958578916229	0.003098824721331
Causa # 15	1	43.34981466672367	43.34981466672367	3.387047231727872	0.066039245893475
Causa # 16	2	434.4743886389885	217.2371943194943	16.97337447241694	0.00000005808055941017069
Causa # 17	1	53.92615710903805	53.92615710903805	4.213407659481791	0.04039406599061
Causa # 18	1	88.4300367000777	88.4300367000777	6.909296229044972	0.00872083501389

cal treure la causa # 3 (p > 0.003846153846153846)

```

**Error**      902  11565.28511538358  12.8218238529751
Causa # 2      1      430.9028489235699  430.9028489235699  33.60698554781548  0.000000009321656
Causa # 5      1      801.6353357728587  801.6353357728587  62.52116274291602  0.000000000000008
Causa # 7      1      470.0771780421476  470.0771780421476  36.6622707839707  0.000000002059109
Causa # 9      1      475.66951809988    475.66951809988    37.09842870673258  0.000000001660904
Causa # 10     2      254.861701396726   127.430850698363   9.93859002896805   0.0000537769615530974
Causa # 11     1      57.73473969912349  57.73473969912349  4.502849232773313  0.03411045182671
Causa # 13     2      493.2291273722911  246.6145636861456  19.23396909160647  0.000000006607039935199242
Causa # 14     1      114.1840860394737  114.1840860394737  8.90544803522466   0.002919883716494
Causa # 15     1      58.34100500488548  58.34100500488548  4.550133091350212  0.033185553992332
Causa # 16     2      404.8790633525698  202.4395316762849  15.78866891306669  0.0000001821221394402176
Causa # 17     1      79.66417926173396  79.66417926173396  6.213170620281853  0.012858747838937
Causa # 18     1      90.73199047776078  90.73199047776078  7.076371623738059  0.007949328170041
cal treure la causa # 11 (p > 0.00416666666666667)

```

```

**Error**      903  11623.01985494258  12.8715613011546
Causa # 2      1      1012.433403416168  1012.433403416168  78.6566120246307  0.00000000057155
Causa # 5      1      744.407702619465   744.407702619465   57.83352036343023  0.00000000135529
Causa # 7      1      437.4304600366679  437.4304600366679  33.98425799342848  0.000000007904869
Causa # 9      1      432.9652536744966  432.9652536744966  33.63735319627922  0.000000009345057
Causa # 10     2      214.6779216662451  107.3389608331226  8.33923393764936   0.000257843900988542
Causa # 13     2      494.0364106652297  247.0182053326149  19.19100562497084  0.000000006882046404199252
Causa # 14     1      115.8399057730554  115.8399057730554  8.99967789942191   0.00277443264482
Causa # 15     1      52.50108410713466  52.50108410713466  4.078843496820019  0.043718332617483
Causa # 16     2      356.9916823707731  178.4958411853866  13.86745842319651  0.000001169707133620386
Causa # 17     1      83.97112118612189  83.97112118612189  6.523771221024255  0.010807354833606
Causa # 18     1      92.1679324430804  92.1679324430804  7.160586838429056  0.007587242035974
cal treure la causa # 15 (p > 0.004545454545454545)

```

```

**Error**      904  11675.52093945707  12.9153992693109
Causa # 2      1      1815.141366529574  1815.141366529574  140.5408635598782  0
Causa # 5      1      767.4641739458472  767.4641739458472  59.42241180026603  0.000000000000032
Causa # 7      1      440.2270264647581  440.2270264647581  34.0854368715344   0.000000007349279
Causa # 9      1      431.6088261666144  431.6088261666144  33.41815589024705  0.000000010229236
Causa # 10     2      195.2003885128781  97.6001942564391   7.55688556128134   0.0005561847614452146
Causa # 13     2      490.2509523510139  245.125476175507   18.97931849137372  0.000000008428343770163578
Causa # 14     1      117.0626698226295  117.0626698226295  9.06380572382223   0.002678654439856
Causa # 16     2      328.5295723582018  164.2647861791009  12.71852172386346  0.000003570266892829182
Causa # 17     1      31.70253071196098  31.70253071196098  2.454630325466699  0.11752870982315
Causa # 18     1      93.7975250318796  93.7975250318796  7.262456473549204  0.00717174715442
cal treure la causa # 17 (p > 0.005)

```

```

**Error**      905  11707.22347001888  12.9361585304076
Causa # 2      1      1832.337825488921  1832.337825488921  141.6446637679839  0.000000000343796
Causa # 5      1      736.0546055444147  736.0546055444147  56.89900937857652  0.000000000120979
Causa # 7      1      434.9593521580561  434.9593521580561  33.62353291633256  0.000000009399387
Causa # 9      1      400.7094844677424  400.7094844677424  30.97592562164717  0.000000034526241
Causa # 10     2      229.9871531881494  114.9935765940747  8.88931411313274   0.0001502625832230046
Causa # 13     2      505.4018125548117  252.7009062774059  19.53446269875325  0.00000004946597489725637
Causa # 14     1      122.1739775025539  122.1739775025539  9.44437850041595   0.002181419770276
Causa # 16     2      409.0627510341861  204.5313755170931  15.81082784632886  0.000000178108190594992
Causa # 18     1      98.42079555945588  98.42079555945588  7.608193369624296  0.005927508441673
cal treure la causa # 18 (p > 0.005555555555555556)

```

!!Error!!	906	11805.64426560811	13.030512434446			
Causa # 2	1	1839.782150977559	1839.782150977559	141.1903146735901	0.000000000000001	
Causa # 5	1	720.1526514235525	720.1526514235525	55.26664089739386	0.000000000000244	
Causa # 7	1	438.3991477725683	438.3991477725683	33.64404508096439	0.000000009139225	
Causa # 9	1	388.3055300298593	388.3055300298593	29.79971294170891	0.000000061868189	
Causa # 10	2	243.0904971028498	121.5452485514249	9.32774126596292	0.00009775897169621415	
Causa # 13	2	558.1806157547219	279.090307877361	21.41821430902358	0.000000008154398202150593	
Causa # 14	1	32.82384277911153	32.82384277911153	2.518998615307108	0.112830910899751	
Causa # 16	2	422.4634099651355	211.2317049825678	16.21054475372583	0.0000001210287617272278	

cal treu la causa # 14 (p > 0,00625)

!!Error!!	907	11838.46810829964	13.0523352902973			
Causa # 2	1	1839.819165262763	1839.819165262763	140.9570873214104	0.00000000326114	
Causa # 5	1	719.3617161432147	719.3617161432147	55.11364059717083	0.00000000098206	
Causa # 7	1	438.1551693145656	438.1551693145656	33.56910158753557	0.00000000964209	
Causa # 9	1	388.1630089313124	388.1630089313124	29.73897009984571	0.000000063840035	
Causa # 10	2	245.8766053568353	122.9383026784177	9.4188740898961	0.00008939945402608977	
Causa # 13	2	541.0708291993616	270.5354145996808	20.72697403052375	0.000000001577741705910361	
Causa # 16	2	423.3345694932641	211.6672847466321	16.21681331646292	0.0000001202617848175111	

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 2: X(2)
- Causa # 5: X(6)
- Causa # 7: X(8)
- Causa # 9: X(10)
- Causa # 10: X(11) X(12)
- Causa # 13: X(15) X(16)
- Causa # 16: X(19) X(20)

t(p=0.05 | v= 907)= 1.96257893604662

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y x)
b(1)	1	85.85058397550977	7.683629747961157	100,9303138712395 70,77085407978	0
b(2)	36.0239651416122	-0.2368727545946916	0.01995132080880259	-0.197716712429027 -0.2760287965603562	-0.4726850223407598
b(6)	31.3006535947712	-3.761912988111189	0.5067330099557997	-2.767409456572434 -4.756416519649944	-0.4908921513944145
b(8)	1802.6688453159	0.001497051540979785	0.000258384759318342	0.002004152027013439 0.000989951054946131	-0.412302777388711
b(10)	991.483660130719	0.04515557430754979	0.008280344543404566	0.06140640409164416 0.02890474452345542	-0.4743396173018583
b(11)	-14.8039215686275	-0.00211135990941455	0.01158210702625849	0.02061943937535792 -0.02484215919418702	0.02930206884242644
b(12)	-3.42047930283224	-0.02202327979475314	0.008242117789521454	-0.00584747303262321 -0.03819908655688307	-0.01282079193006466
b(15)	-0.0468409586056645	-0.01725792792985274	0.2272662873049653	0.4287701004083916 -0.463285956268097	-0.0848558778656705
b(16)	-0.0196078431372549	-0.8334100183503645	0.1731276787258878	-0.4936332828362906 -1.173186753864438	-0.1396370139840093
b(19)	-2.04531590413943	0.2052476745450018	0.08580606327939528	0.3736488469222263 0.0368465021677773	-0.1064255485452759
b(20)	-0.286928104575163	0.1182607775672748	0.05925704047907181	0.234557397023963 0.0019641581105866	0.000736243481057384

Les causes de variació de la Dpt en la rata són finalment:

Causa Definició

- 1 - Constant X(1)
- 2 - Temps X(2)
- 5 - Temperatura X(6)
- 7 - Quadrat del temps X(8)
- 9 - Quadrat de la temperatura X(10)
- 10 - Interacció del temps amb el medi X(11), X(12)
- 13 - Interacció del medi amb la zona X(15), X(16)
- 16 - Interacció del temps de muntatge amb el medi X(19), X(20)

Quan les causes són interaccions entre variants i/o variables, la seva contribució al model final no es pot deduir directament de les estimacions 'b'. Cal fer hipòtesis nul·les i veure si es compleixen o no. El significat d'aquestes causes de variació, així com les hipòtesis que es fan, es consideren en els apartats que segueixen.

4.1.2.1. Variació de la Dpt en funció del temps

A mida que passa el temps, la Dpt va disminuint seguint una funció quadràtica d'equació

$$Dpt = -0,237t + 0,001t^2 + K$$

-0,237 és la contribució del temps que passa (en min) a la disminució de la Dpt i 0,001 és la contribució del quadrat del temps que passa al valor de la Dpt. La

representació gràfica d'aquesta variació és de tipus parabòlica.

4.1.2.2. Efecte de la temperatura del medi sobre la Dpt

L'equació que relaciona la temperatura del medi a la que es fa l'experiment amb la Dpt que s'obté és també de tipus quadràtic.

$$Dpt = -3,762T^2 + 0,045T^2 + K$$

Al augmentar la temperatura a la que es fa l'experiment disminueix el valor de la Dpt que s'obté.

En les taules VII, VIII i IX es representen els valors individuals d'experiments fets amb el medi Ringer amb glucosa, a tres temperatures diferents. La representació gràfica pot veure's a la figura 14.

Amb el programa '3-D PLO' dissenyat per un dels directors de la tesina (Dr. Antoni Diez Noguera), s'ha representat gràficament la variació de la Dpt respecte el temps i respecte la temperatura a la que es fa l'experiment. En la figura 15 es pot veure la representació tridimensional que resulta.

L'equació que determina cada punt és la següent:

$$Z = 85,85 - 0,2369Y - 3,762X + 0,001497Y^2 + 0,04515X^2$$

on Z és la Dpt

Y és el temps

X és la temperatura

Les constants que multipliquen cada variable són els valors corresponents de les 'b'.

TAULA VII

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Ringer-bicarbonat amb 10mM de glucosa
 PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer
 TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 25°C

Zona	Càmbra to (min) dels resultats	Expressió	Temps (min)																
			0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	
Proximal	030513	M	17.7	15.5	14.5	15.0	14.6	14.2	13.2	12.5	11.5	10.5	10.0	9.5	9.0	8.2	8.0	8.0	
		P	100.0	87.6	81.9	84.7	82.5	80.2	74.6	70.6	65.0	59.3	56.5	53.7	50.8	46.3	45.2	45.2	45.2
	040523	M	15.2	13.5	13.2	12.5	11.7	10.7	10.2	9.7	9.5	8.7	8.2	7.7	7.5	6.7	6.0	5.7	5.7
		P	100.0	88.8	86.8	82.2	77.0	70.4	67.1	63.8	62.5	57.2	53.9	50.7	49.3	44.1	39.5	37.5	37.5
Distal	030523	M	28.0	25.5	24.2	23.0	21.5	20.0	19.0	18.0	17.0	15.5	14.0	13.7	13.0	11.5	11.5	11.0	11.0
		P	100.0	91.1	86.4	82.1	76.8	71.4	67.9	64.3	60.7	55.4	50.0	48.9	46.4	41.1	41.1	39.3	39.3
	040513	M	13.7	16.5	16.0	15.2	13.7	12.5	11.5	10.5	9.7	9.5	9.2	8.7	8.5	8.2	7.7	7.5	7.5
		P	100.0	120.4	116.8	110.9	100.0	91.2	83.9	76.6	70.8	69.3	67.1	63.5	62.0	59.9	56.2	54.7	54.7

VALORS MESURATS ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL

Mitjana	18.6	17.7	17.0	16.4	15.4	14.3	13.5	12.7	11.9	11.0	10.3	9.9	9.5	8.6	8.3	8.0	8.0
Error	3.2	2.7	2.5	2.3	2.1	2.0	1.9	1.9	1.8	1.5	1.3	1.3	1.2	1.0	1.2	1.1	1.1
n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
PERCENTATGES ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL																	
Mitjana	100.0	97.0	93.0	90.0	84.1	78.3	73.4	68.8	64.7	60.3	56.9	54.2	52.1	47.8	45.5	44.2	44.2
Error	6.0	7.8	8.0	7.0	5.5	4.8	3.9	3.0	2.2	3.1	3.7	3.3	3.4	4.2	3.8	3.9	3.9
n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

to: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.

M : Valors mesurats de la DP expressats en mV.

P : Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

TAULA VIII

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Ringer-bicarbonat amb 10 mM de glucosa

PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer

TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 31°C

Caobra	Expressió deis resultats	Temps (min)															
		0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
270314	M	19.2	17.5	15.0	12.2	10.5	9.5	8.7	7.7	6.7	5.5	4.2	3.2	2.5	2.5	1.7	2.1
	P	100.0	91.1	78.1	63.5	54.7	49.5	45.3	40.1	34.9	28.6	21.9	16.7	13.0	13.0	8.8	10.9
270324	M	14.5	10.7	10.2	8.5	6.7	5.5	4.6	3.6	2.9	2.4	1.9	1.8	1.7	-----	-----	-----
	P	100.0	73.8	70.3	58.6	46.2	37.9	31.4	24.8	20.0	16.5	13.1	12.4	11.7	-----	-----	-----
290313	M	15.5	14.0	9.2	8.0	6.0	4.7	4.2	3.6	3.0	2.3	2.2	1.8	1.5	1.3	1.0	1.2
	P	100.0	90.3	59.3	51.6	38.7	30.3	27.1	23.2	19.3	14.8	14.2	11.6	9.7	8.4	6.4	7.7
290323	M	19.0	16.2	13.0	11.0	8.7	7.2	6.2	5.7	6.0	5.0	4.0	3.7	3.2	3.0	2.6	2.4
	P	100.0	85.3	68.4	57.9	45.8	37.9	32.6	30.0	31.6	26.3	21.0	19.5	16.8	15.8	13.7	12.6
050423	M	11.5	12.5	11.0	8.7	6.7	5.7	4.7	4.5	4.0	3.6	3.6	3.3	3.2	3.2	3.3	3.1
	P	100.0	108.7	95.6	75.6	58.3	49.6	40.9	39.1	34.8	31.3	31.3	28.7	27.8	27.8	28.7	27.0
100414	M	19.0	14.0	14.0	13.0	11.7	11.0	10.0	9.0	8.7	8.7	8.0	7.5	7.0	6.7	6.2	5.5
	P	100.0	73.7	73.7	68.4	61.6	57.9	52.6	47.4	45.8	45.8	42.1	39.5	36.8	35.3	32.6	28.2
020723	M	3.8	4.2	3.8	3.2	2.6	1.9	1.4	1.1	0.8	0.7	0.7	0.5	0.5	-----	-----	-----
	P	100.0	110.5	100.0	84.2	68.4	50.0	36.8	28.9	21.1	16.4	16.4	13.2	13.2	-----	-----	-----
020733	M	5.0	5.0	-----	4.2	3.7	3.4	3.0	2.5	2.2	1.8	2.0	1.8	1.8	1.7	1.5	1.5
	P	100.0	100.0	-----	84.0	74.0	68.0	60.0	50.0	44.0	36.0	40.0	36.0	36.0	33.0	30.0	30.0
270313	M	16.0	13.0	14.0	12.7	11.0	9.7	9.2	8.1	7.0	7.2	5.5	4.0	3.5	3.2	2.5	2.0
	P	100.0	81.3	87.5	79.4	68.8	60.6	57.5	50.6	43.8	45.0	34.4	25.0	21.9	20.0	15.6	12.5
270323	M	10.0	11.5	10.0	8.0	6.2	4.2	4.2	4.1	3.4	1.8	1.5	1.5	1.3	-----	-----	-----
	P	100.0	115.0	100.0	80.0	62.0	42.0	42.0	41.0	34.0	18.0	15.0	15.0	13.0	-----	-----	-----
290314	M	25.0	18.0	15.0	11.5	6.7	6.0	5.0	4.0	3.0	3.2	3.0	2.2	2.1	1.9	1.9	1.7
	P	100.0	72.0	60.0	46.0	26.8	24.0	20.0	16.0	12.0	12.8	12.0	8.8	8.4	7.6	7.6	6.8
290324	M	12.0	12.7	11.7	11.0	10.0	9.0	8.0	7.0	7.0	6.7	5.7	5.0	5.0	4.5	4.2	3.6
	P	100.0	105.8	97.5	91.7	83.3	75.0	66.7	58.3	58.3	55.8	47.5	41.7	41.7	37.5	35.0	30.0
050414	M	16.2	17.7	18.2	16.5	15.5	13.5	12.0	10.7	10.5	10.2	9.5	9.2	8.5	8.5	7.7	7.5
	P	100.0	109.3	112.3	101.8	95.7	83.3	74.1	66.0	64.5	63.0	58.6	51.8	52.5	52.5	47.5	46.0
100424	M	26.0	20.5	19.0	16.7	15.2	12.5	11.2	10.2	10.0	9.0	8.0	8.0	7.2	6.2	6.0	5.0
	P	100.0	78.8	73.1	64.2	58.5	48.1	43.1	39.2	38.5	34.6	30.8	30.8	27.7	23.8	23.1	19.2
020743	M	4.7	4.2	3.8	3.2	2.8	2.6	2.2	1.9	1.8	1.8	1.7	1.5	1.2	1.1	1.0	0.9
	P	100.0	89.4	80.9	68.1	59.6	55.3	46.8	40.4	38.3	38.3	35.1	31.9	25.5	23.4	21.3	19.1

VALORS MESURATS ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL

	Mitjana	14.5	12.8	12.0	9.9	8.3	7.1	6.3	5.6	5.1	4.7	4.1	3.7	3.3	3.6	3.3	3.0
Error	1.8	1.3	1.2	1.1	1.0	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	0.6	0.7	0.6	0.6
n	15	15	14	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	12	12	12

PERCENTATGES ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL

	Mitjana	100.0	92.3	82.6	71.7	60.2	51.3	45.1	39.7	36.1	32.3	29.0	25.8	23.7	24.8	22.5	20.9
Error	0.0	3.8	4.4	4.0	4.4	4.2	3.9	3.5	3.7	4.0	3.6	3.5	3.4	3.8	3.7	3.4	
n	15	15	14	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	12	12	12

M : Valors mesurats de la DP expressats en mV.

P : Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

TAULA IX

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒL·L·L·L DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Ringer-bicarbonat amb 10mM de glucosa
 PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer
 TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 37°C

Zona	Caobra	to (min)	Expressió dels resultats	Temps (min)															
				0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
Proximal	200313	7,0	M	15.5	13.8	12.0	7.8	3.5	2.4	1.3	1.2	1.1	0.9	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	
			P	100.0	88.7	77.4	50.0	22.6	15.5	8.4	7.7	7.1	5.8	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
	200323	6,5	M	10.5	9.5	5.5	5.5	3.8	3.2	2.3	1.9	1.4	1.0	0.9	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7
			P	100.0	90.5	52.4	52.4	36.2	30.5	21.9	18.1	13.3	9.5	8.6	7.6	6.6	6.6	6.6	6.6
	220314	5,0	M	7.5	8.0	6.7	4.5	3.1	2.5	-----	1.3	1.2	1.0	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
			P	100.0	106.7	89.3	60.0	41.3	33.3	-----	17.3	16.0	13.3	10.7	9.3	9.3	9.3	9.3	9.3
	220324	5,0	M	10.0	8.0	6.2	4.7	3.3	2.5	2.0	1.3	1.0	0.9	0.7	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5
			P	100.0	80.0	62.0	47.0	33.0	25.0	20.0	13.0	10.0	9.0	7.0	6.0	5.0	5.0	5.0	5.0

VALORS MESURATS ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL

Mitjana	9.1	8.3	6.2	4.6	3.1	2.6	1.7	1.4	1.1	0.9	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Error	1.4	1.0	1.1	0.7	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
n	7	7	7	7	7	7	6	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
PERCENTATGES ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL																	
Mitjana	100.0	100.8	76.3	57.4	40.8	34.8	24.1	17.4	14.2	10.9	9.4	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
Error	0.0	16.3	15.9	12.3	9.7	9.3	7.9	3.2	2.4	1.6	1.5	1.3	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1
n	7	7	7	7	7	7	6	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7

tot Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.
 M : Valors mesurats de la DP expressats en mV.
 P : Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

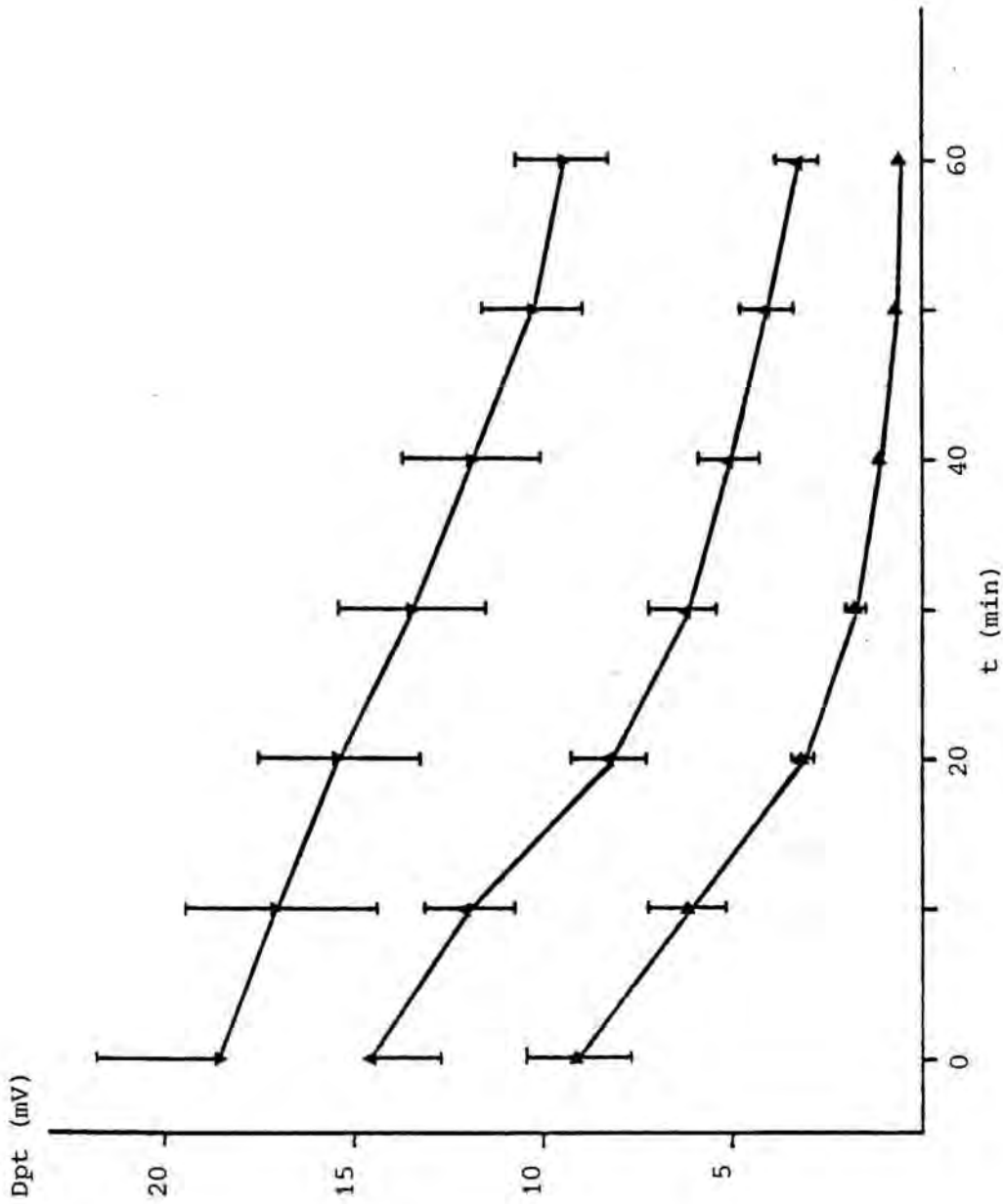


FIGURA 14: Dpt al còlon descendent de rata. Efecte de la temperatura. 25°C (n=4) (▼); 31°C (n=15) (▲); 37°C (n=7) (▴) Medi RgG. La dispersió representa l'error estàndard.

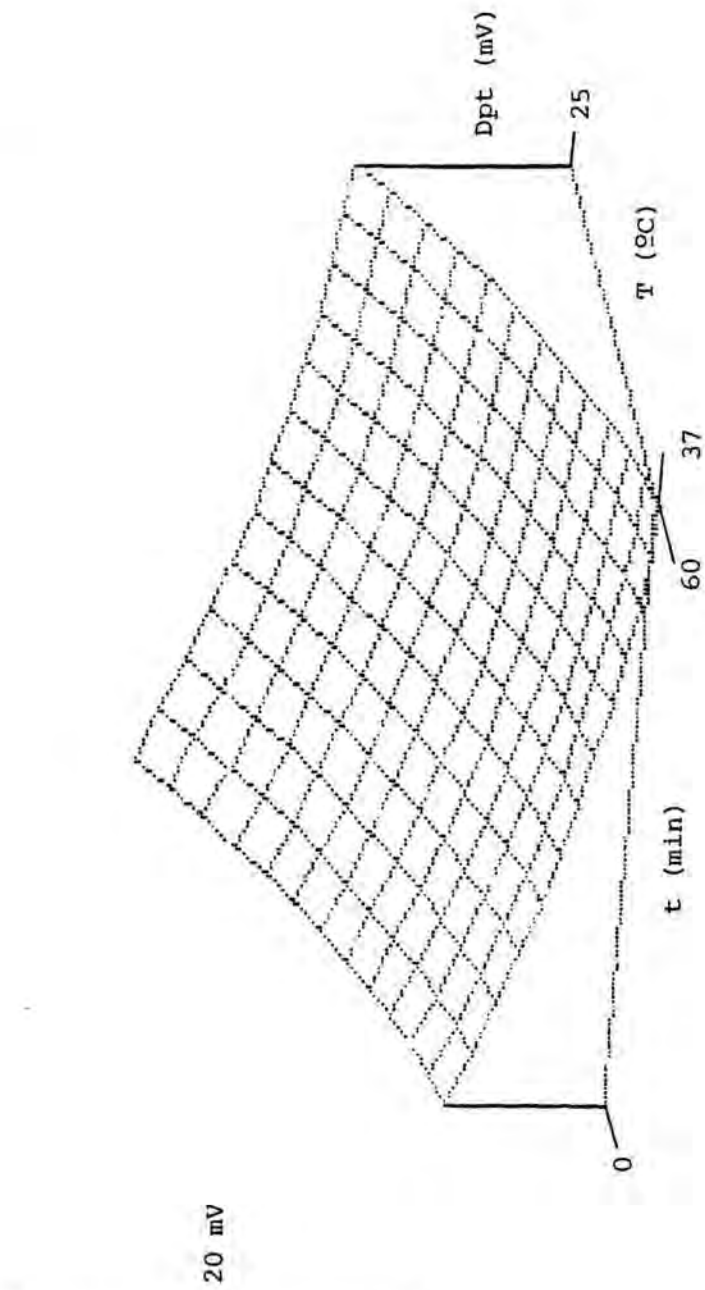


FIGURA 15: Variació de la Dpt en el temps a diferents temperatures al còlon descendent de rata. Orientació de la figura: elevació, 10° ; gir 30° .

La Dpt es representa en l'eix de les Z i amb una escala on 1 cm val 4 mV. La temperatura es representa en l'eix de les X, i en un intèrval de 25 a 37 °C. El temps es representa en l'eix de les Y, i en un intèrval de 0 a 60 min. L'elevació de la figura és de 10° i el gir de 30°.

4.1.2.3. Importància del temps de muntatge

Considerant el cas general sense tenir en compte les demés condicions, el temps que es tarda des de que s'extreu el budell de la rata fins que es té en condicions semblants a les fisiològiques no afecta a la Dpt. No és així en el moment en que es consideren els diferents medis. L'anàlisi feta demostra diferències en la Dpt segons el temps de muntatge, depenent del medi d'incubació emprat.

Per veure la significació d'aquest fet s'han formulat tres hipòtesis i l'ordinador ha aplicat el test estadístic de la F de Snedecor per acceptar-les o rebutjar-les. Les hipòtesis formulades són les següents:

1. $H_0: t_m(R_g=R_gGB)$
2. $H_0: t_m(R_gG=R_gGB)$
3. $H_0: t_m(R_g=R_gG)$

On R_g es refereix al medi Ringer, R_gG al medi Ringer amb glucosa i R_gGB al medi Ringer amb glucosa i amb àcid β -hidròxibutíric.

De la informació que dóna l'ordinador cal tenir en compte principalment el valor de la F, la probabilitat (p) amb la que es rebutja la hipòtesis, l'estimació de la diferència i els límits fiducials (l.f.).

HIPOTESI: 1

0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 1
 SQ(Ho)= 195.4737362439906 GL(Ho)= 1/ 907 V(Ho)= 195.4737362439906 F= 14.97615038967779 P= 0.000116675259437
 * = 0.8297561266572784 l.f.: 0.2606032566022485 * 0.7959089947123083

HIPOTESI: 2

0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 2
 SQ(Ho)= 358.0325355734816 GL(Ho)= 1/ 907 V(Ho)= 358.0325355734816 F= 27.43053465992653 P= 0.00000202358158
 * = 0.4417692296795514 l.f.: 0.2762292733097155 * 0.6073101860493873

HIPOTESI: 3

0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 -1
 SQ(Ho)= 5.480502340099022 GL(Ho)= 1/ 907 V(Ho)= 5.480502340099022 F= 0.4198867266437039 P= 0.517157565627391
 * = 0.086986896977727 l.f.: -0.1764732314293563 * 0.3504470253848103

Les dues primeres hipòtesis han sigut rebutjades i la tercera acceptada.

1. $t_m(R_g > R_{gGB})$
2. $t_m(R_{gG} > R_{gGB})$

Dels valors que s'obtenen es dedueix el següent:

- El temps de muntatge afecta d'igual manera els experiments fets amb R_g i els fets amb R_{gG} .

- En els experiments fets amb medi R_{gGB} , al augmentar el temps de muntatge disminueix la Dpt observada de manera que per cada minut de més que es tarda en muntar el teixit en les cambres, el valor de la Dpt que es té és 0,3 mV menor. Aquest valor de 0,3 mV s'obté sumant les estimacions 'b' de les variables $X(19)$ i $X(20)$ del model final que corresponen a $t_m(R_g - R_{gGB})$ i $t_m(R_{gG} - R_{gGB})$ respectivament.

4.1.2.4. Importància de la presència de substrats metabolitzables en el manteniment de la Dpt

No s'observa diferència en la Dpt en els tres medis estudiats. El model final obtingut indica que hi ha una interacció dels medis amb el temps, és a dir, la manera en que la Dpt varia a lo llarg del temps difereix segons el medi d'incubació utilitzat. Per conèixer aquesta variació entre cada dos medis s'han formulat les següents hipòtesis:

1. $H_0: t(R_g=R_{gGB})$
2. $H_0: t(R_{gG}=R_{gGB})$
3. $H_0: t(R_g=R_{gG})$

HIPOTESI: 1
 0 0 0 0 0 2 1 0 0 0 0
 $SQ(H_0) = 28.65705888010736$ $GL(H_0) = 1/907$ $V(H_0) = 28.65705888010736$ $F = 2.195550316686255$ $P = 0.138737091159194$
 $\# = -0.02624599961358224$ $l.f. = -0.06100910413238674$ ~ 0.00851710490522226

HIPOTESI: 2
 0 0 0 0 0 1 2 0 0 0 0
 $SQ(H_0) = 241.5810448565473$ $GL(H_0) = 1/907$ $V(H_0) = 241.5810448565473$ $F = 18.50864534840226$ $P = 0.000018750232832$
 $\# = -0.04615791949892083$ $l.f. = -0.06721441257418854$ $\sim -0.02510142642365312$

HIPOTESI: 3
 0 0 0 0 0 1 -1 0 0 0 0
 $SQ(H_0) = 14.89395596553291$ $GL(H_0) = 1/907$ $V(H_0) = 14.89395596553291$ $F = 1.141095109363659$ $P = 0.2857032674534$
 $\# = 0.01991191988533859$ $l.f. = -0.01667108268538848$ ~ 0.05649492245606566

Les hipòtesis 1 i 3 han sigut acceptades, la 2 ha sigut rebutjada.

2. $t(R_{gG} < R_{gGB})$

Això indica que només hi ha diferència en el comportament en front del temps entre el medi R_{gG} i el medi R_{gGB} ; en canvi, els medis R_g i R_{gG} per una banda i els medis R_g i R_{gGB} per l'altra no difereixen significativament en quan a la variació de la Dpt al llarg del temps. Per aclarir més la situació s'ha fet la següent hipòtesi:

4. $t(R_{gGB} = 1/2R_g + 1/2R_{gG})$

HIPOTESI: 4
 0 0 0 0 0 -1.5 -1.5 0 0 0 0
 $SQ(H_0) = 134.0971449204085$ $GL(H_0) = 1/907$ $V(H_0) = 134.0971449204085$ $F = 10.27380479722218$ $P = 0.001396467156481$
 $\# = 0.03620195955625154$ $l.f. = 0.01403564166322736$ ~ 0.05836827744927572

Aquesta hipòtesi ha sigut rebutjada: $t(RgGB > 1/2Rg + 1/2RgG)$. Això indica que utilitzant el medi RgGB la Dpt disminueix menys ràpidament que utilitzant qualsevol dels altres dos medis.

En les taules X, VII i XI es tenen els resultats individuals obtinguts en experiments fets amb cada un dels tres medis. En la figura 16 pot observar-se la diferència entre el pendent dels valors de la Dpt en medi RgGB respecte el pendent dels valors de la Dpt en qualsevol dels altres dos medis. El fet de que la gràfica del medi RgGB correspongui a una temperatura diferent a la de les altres dues no varia la relació dels pendents, únicament fa que tots els punts tinguin un valor una mica més elevat.

4.1.2.5. Diferències en la Dpt de la zona proximal i la distal del còlon descendent

En general, no s'observen diferències entre la Dpt de la zona proximal i la distal del còlon. En canvi, la interacció del medi amb la zona ha donat significativa, per tant hi ha diferència entre la zona proximal i la distal dependent del medi d'incubació emprat. En aquest cas les hipòtesis formulades són les següents:

1. Ho: Rg (P=D)
2. Ho: RgG (P=D)
3. Ho: RgGB (P=D)

HIPOTESI: 1

0 0 0 0 0 0 0 0 2 0 0 0				
SQ(Ho) = 0.07526541993090538	GL(Ho) = 1/ 907	V(Ho) = 0.07526541993090538	F = 0.005766433229761407	P = 0.93948593853779
∗ = -0.03451585585970548	l.f. : -0.9265719125361942	∗ = 0.8575402008167832		

HIPOTESI: 2

0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 0 0				
SQ(Ho) = 302.4632697980165	GL(Ho) = 1/ 907	V(Ho) = 302.4632697980165	F = 23.17311523730615	P = 0.000001733879232
∗ = -1.666820036700729	l.f. : -2.346373507728877	∗ = -0.987266565672581		

TAULA X

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATR

MEDI D'INCUBACIÓ : Ringer-bicarbonat
 PREPARACIÓ DEL TÈXIT : Intestí sencer
 TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 37°C

Zona	Cambra to Expressió (min) dels resultats	Temps (min)																
			0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
Proximal 150314	5,5	M	8.0	7.0	6.0	5.0	3.9	2.9	1.8	1.5	1.1	1.0	0.8	0.7	0.6	0.6	0.5	0.5
		P	100.0	87.5	75.0	62.5	48.6	36.3	22.5	18.8	13.8	12.5	10.0	8.8	7.5	7.5	6.3	6.3
	7,5	M	5.5	15.5	13.0	9.7	7.5	5.6	4.0	3.0	3.0	2.2	1.7	1.4	1.1	0.9	1.1	0.9
		F	100.0	281.8	230.4	170.4	136.4	101.8	72.7	54.5	54.5	40.0	30.9	25.5	20.0	16.4	20.0	16.4
Distal 150313	5,5	M	11.0	9.4	7.7	6.2	4.7	3.2	1.7	1.3	0.9	0.8	0.7	0.7	0.6	0.5	0.4	0.4
		P	100.0	85.5	70.0	56.4	42.7	29.1	15.5	11.8	8.2	7.3	6.4	6.4	5.5	4.5	3.6	3.6
	7,5	M	3.0	5.0	4.7	3.9	3.9	3.5	2.6	1.9	1.6	1.4	1.1	0.9	1.2	0.5	0.4	0.3
		P	100.0	166.7	156.7	130.0	130.0	116.7	86.7	63.3	53.3	46.7	36.7	30.0	40.0	16.7	13.3	10.0
Proximal 130313	5,0	M	5.0	-----	-----	-----	4.2	-----	2.1	-----	-----	0.5	-----	-----	0.1	-----	-----	-----
		P	100.0	-----	-----	-----	84.0	-----	42.0	-----	10.0	-----	2.0	-----	2.0	-----	-----	-----
	5,0	M	15.5	-----	-----	-----	10.0	-----	7.0	-----	-----	2.1	-----	-----	0.5	-----	-----	-----
		P	100.0	-----	-----	-----	64.5	-----	45.2	-----	13.5	-----	3.2	-----	3.2	-----	-----	-----
Distal 130323	5,0	M	6.0	-----	-----	5.5	-----	1.6	-----	-----	0.6	-----	-----	0.4	-----	-----	0.3	
		P	100.0	-----	-----	91.7	-----	26.7	-----	10.0	-----	6.7	-----	6.7	-----	-----	5.0	
	5,0	M	13.0	-----	-----	15.0	-----	6.2	-----	-----	2.6	-----	-----	1.6	-----	-----	1.2	
		P	100.0	-----	-----	115.4	-----	47.7	-----	20.0	-----	12.3	-----	12.3	-----	-----	9.2	

VALORS MESURATS ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL

Mitjana	8.4	9.2	7.8	7.5	5.7	3.8	3.4	1.9	1.6	1.4	1.1	0.9	0.8	0.6	0.6	0.7
Error	1.5	2.3	1.8	1.7	1.0	0.6	0.8	0.4	0.5	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2
n	8	4	4	6	6	4	8	4	4	4	8	4	4	8	4	4

PERCENTATGES ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL

Mitjana	100.0	155.4	134.5	105.4	84.4	71.0	44.9	37.1	32.4	20.0	21.0	17.7	12.1	11.3	10.8	10.1
Error	0.0	46.2	39.3	18.4	16.5	22.4	8.7	12.8	12.4	5.3	7.5	5.9	4.5	3.1	3.7	2.4
n	8	4	4	6	6	4	8	4	4	4	8	4	4	8	4	4

Lo: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.

M: Valors mesurats de la DP expressats en mV.

F: Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

TAULA XI

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Ringer-bicarbonat amb 10mM de glucosa i 1mM d'acid beta-hidroxibutíric

PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer

TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 31°C

ZONA : Proximal

Càmbra	to (min)	Expressió dels resultats	Temps (min)															
			0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
030414	4,7	M	17,5	14,2	16,2	15,9	15,5	15,0	14,7	13,0	12,5	11,7	10,5	9,7	9,0	8,5	7,5	6,5
		P	100,0	81,1	92,6	90,6	88,6	85,7	84,0	74,3	71,4	66,9	60,0	55,4	51,4	48,6	42,9	37,1
030424	5,5	M	18,0	15,2	15,2	14,5	13,5	11,2	9,5	8,2	7,0	6,5	5,7	5,3	4,7	4,2	-----	-----
		P	100,0	84,4	84,4	80,6	75,0	62,2	52,8	45,6	38,9	36,1	31,7	29,2	26,1	23,3	-----	-----
050413	5,5	M	19,2	22,0	22,0	19,7	17,5	17,0	15,5	14,5	13,9	13,2	12,5	10,5	8,0	6,5	5,2	4,7
		P	100,0	114,6	114,6	102,6	91,1	88,5	80,7	75,5	72,1	68,8	65,1	54,7	41,7	33,9	27,1	24,5
100423	4,5	M	20,0	15,5	14,0	11,7	10,2	9,0	8,2	7,7	7,0	7,0	7,0	6,2	6,0	5,5	5,0	4,5
		P	100,0	77,5	70,0	58,5	51,0	45,0	41,0	38,5	35,0	35,0	35,0	31,0	30,0	27,5	25,0	22,5
110523	5,5	M	10,5	11,5	10,7	10,0	9,2	9,0	8,2	8,0	7,5	7,5	7,2	7,0	6,7	6,7	6,2	6,0
		P	100,0	109,5	101,9	95,2	87,6	85,7	78,1	76,2	71,4	71,4	68,8	66,7	63,8	63,8	59,0	57,1
140514	6,5	M	5,0	3,7	3,8	3,7	3,5	3,2	2,9	2,7	2,4	2,3	2,1	1,9	-----	-----	-----	-----
		P	100,0	74,0	77,0	74,0	69,0	63,5	58,0	55,0	48,0	46,0	42,0	38,0	-----	-----	-----	-----
020744	6,0	M	3,2	3,2	2,7	2,3	2,0	1,8	1,5	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	1,0	0,9	0,8	0,7
		P	100,0	100,0	84,4	71,9	62,5	56,3	46,9	43,8	40,6	37,5	34,4	31,3	31,3	28,1	25,0	21,9
191012	4,5	M	11,0	10,0	-----	-----	-----	-----	3,5	6,0	6,0	4,7	3,0	3,0	3,9	4,0	4,6	4,6
		P	100,0	90,9	-----	-----	-----	-----	31,8	54,5	54,5	42,7	27,3	27,3	35,5	36,4	41,8	41,8
191013	4,5	M	16,0	13,0	11,0	9,5	8,0	8,5	9,0	10,0	9,0	8,5	4,0	5,2	5,9	6,1	6,7	7,2
		P	100,0	81,3	68,8	59,4	50,0	53,1	56,3	62,5	56,3	53,1	25,0	32,5	36,9	38,1	41,9	45,0
231013	4,0	M	6,8	9,0	9,0	7,2	3,4	3,1	2,8	2,2	1,6	1,2	1,2	1,0	0,8	0,6	0,5	0,4
		P	100,0	132,4	132,4	105,9	50,0	45,6	41,2	32,4	23,5	17,6	17,6	14,7	11,8	8,8	7,4	5,9
231014	4,0	M	10,0	10,5	9,0	6,6	5,0	4,0	3,9	2,8	2,4	2,3	2,1	1,9	1,8	1,6	1,6	1,4
		P	100,0	105,0	90,0	66,0	50,0	40,0	39,0	28,0	24,0	23,0	21,0	19,0	18,0	16,0	16,0	14,0
251014	4,0	M	13,5	14,0	14,0	10,0	9,0	7,0	6,2	4,8	3,8	2,7	2,0	1,6	1,4	1,2	1,0	1,0
		P	100,0	103,7	103,7	74,1	66,7	51,9	45,9	35,6	28,1	20,0	14,8	11,9	10,4	8,9	7,4	7,4
030733	5,5	M	7,5	5,6	4,1	3,2	2,5	1,8	1,1	0,8	0,8	0,7	0,7	0,6	0,6	0,5	0,5	0,5
		P	100,0	74,0	54,0	43,3	33,5	23,7	14,0	11,3	10,4	9,1	9,1	7,7	7,3	7,1	7,1	6,7
050713	8,5	M	5,2	4,2	3,6	2,8	2,3	1,8	1,6	1,6	1,5	1,5	1,3	1,3	1,2	1,0	1,0	0,9
		P	100,0	81,0	68,6	53,3	43,8	34,3	31,4	31,4	28,6	28,6	25,7	24,4	23,8	19,6	19,0	17,7
060723	9,5	M	2,5	1,5	1,3	1,1	1,2	1,1	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,8	0,8	0,8	0,8
		P	100,0	60,0	52,0	42,0	47,2	44,0	40,0	38,0	37,2	37,2	38,0	37,2	34,0	32,0	31,2	31,2
090733	4,5	M	3,6	3,6	2,5	2,1	1,8	1,4	1,3	1,1	1,0	0,9	0,9	0,8	0,8	0,7	0,7	0,6
		P	100,0	102,8	71,8	60,6	50,1	40,3	36,1	32,4	29,0	24,8	24,8	22,5	22,0	20,6	19,2	18,3

to: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.

M : Valors mesurats de la DP expressats en mV.

P : Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

TAULA XI (cont.)

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Ringer-bicarbonat amb 10mM de glucosa i 1mM d'acid beta-hidroxi-butíric

PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer

TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 31°C

ZONA : Distal

Càmbra	to (min)	Expressió dels resultats	Temps (min)															
			0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
030413	4,7	M	10.5	10.7	11.2	10.5	9.7	8.7	7.5	6.5	6.0	6.0	5.7	6.2	6.0	6.2	5.5	5.7
		P	100.0	101.9	106.7	100.0	92.4	82.9	71.4	61.9	57.1	57.1	54.3	59.0	57.1	59.0	52.4	54.3
030423	5,5	M	6.5	8.5	7.7	6.2	4.7	4.2	3.7	4.0	3.7	3.5	3.5	3.2	3.2	3.0	-----	-----
		P	100.0	130.8	118.5	95.4	72.3	64.6	56.9	61.5	56.9	53.8	53.8	49.2	49.2	46.2	-----	-----
050424	4,5	M	13.0	13.0	11.0	9.5	8.5	7.7	7.7	6.5	6.2	6.0	5.0	5.0	4.7	5.0	4.5	4.0
		P	100.0	100.0	84.6	73.1	65.4	59.2	59.2	50.0	47.7	46.2	38.5	38.5	36.2	38.5	34.6	30.8
100413	5,0	M	14.2	12.0	11.0	9.5	7.7	7.2	6.6	6.0	6.2	6.0	6.0	5.2	4.7	4.1	4.0	3.7
		P	100.0	84.5	77.5	66.9	54.2	50.7	46.5	42.3	43.7	42.3	42.3	36.6	33.1	28.9	28.2	26.1
110513	6,0	M	22.5	21.0	20.0	19.0	17.7	-----	15.5	14.5	14.0	13.2	12.5	12.5	12.2	12.2	10.5	10.2
		P	100.0	93.3	88.9	84.4	78.7	-----	68.9	64.4	62.2	58.7	55.6	55.6	54.2	54.2	46.7	45.3
020734	6,5	M	5.0	5.0	4.5	4.0	3.7	3.5	3.3	3.2	3.0	2.9	2.6	2.6	2.6	2.6	2.5	2.5
		P	100.0	100.0	90.0	80.0	74.0	70.0	66.0	64.0	60.0	58.0	52.0	52.0	52.0	52.0	50.0	50.0
191014	4,5	M	4.4	5.5	7.0	6.0	5.5	5.0	4.5	4.0	3.2	1.6	2.0	2.0	1.2	0.8	-----	-----
		P	100.0	125.0	159.1	136.4	125.0	113.6	102.3	90.9	72.7	36.4	45.5	45.5	27.3	18.2	-----	-----
231012	4,0	M	3.8	3.8	3.9	3.2	3.2	2.5	2.0	1.5	1.2	1.0	0.8	0.6	0.6	0.5	0.5	0.4
		P	100.0	100.0	102.6	84.2	84.2	65.8	52.6	39.5	31.6	26.3	21.1	15.8	15.8	13.2	13.2	10.5
251012	4,0	M	7.0	7.0	6.0	6.6	5.6	4.0	2.9	2.0	1.8	1.4	1.1	0.9	0.7	0.6	0.5	0.4
		P	100.0	100.0	85.7	94.3	80.0	57.1	41.4	28.6	25.7	20.0	15.7	12.9	10.0	6.6	7.1	5.7

to: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.

M : Valors mesurats de la DP expressats en mV.

P : Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

TAULA XI (cont.)

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Ringer-bicarbonat amb 10mM de glucosa i 1mM d'acid beta-hidroxi-butíric

PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer

TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 31°C

	Temps (min)															
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
VALORS MESURATS ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL																
Mitjana	10.3	9.7	9.2	8.1	7.1	6.0	5.8	5.4	5.0	4.6	4.1	3.8	3.7	3.5	3.3	3.2
Error	1.2	1.1	1.1	1.1	1.0	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6
n	25	25	24	24	24	23	25	25	25	25	25	25	24	24	21	21
PERCENTATGES ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL																
Mitjana	100.0	96.3	90.8	78.9	68.4	60.2	53.7	49.5	45.1	40.7	36.8	34.7	32.5	30.5	28.7	27.3
Error	0.0	3.6	5.0	4.4	4.2	4.3	3.9	3.8	3.6	3.4	3.4	3.3	3.3	3.5	3.6	3.6
n	25	25	24	24	24	23	25	25	25	25	25	25	24	24	21	21

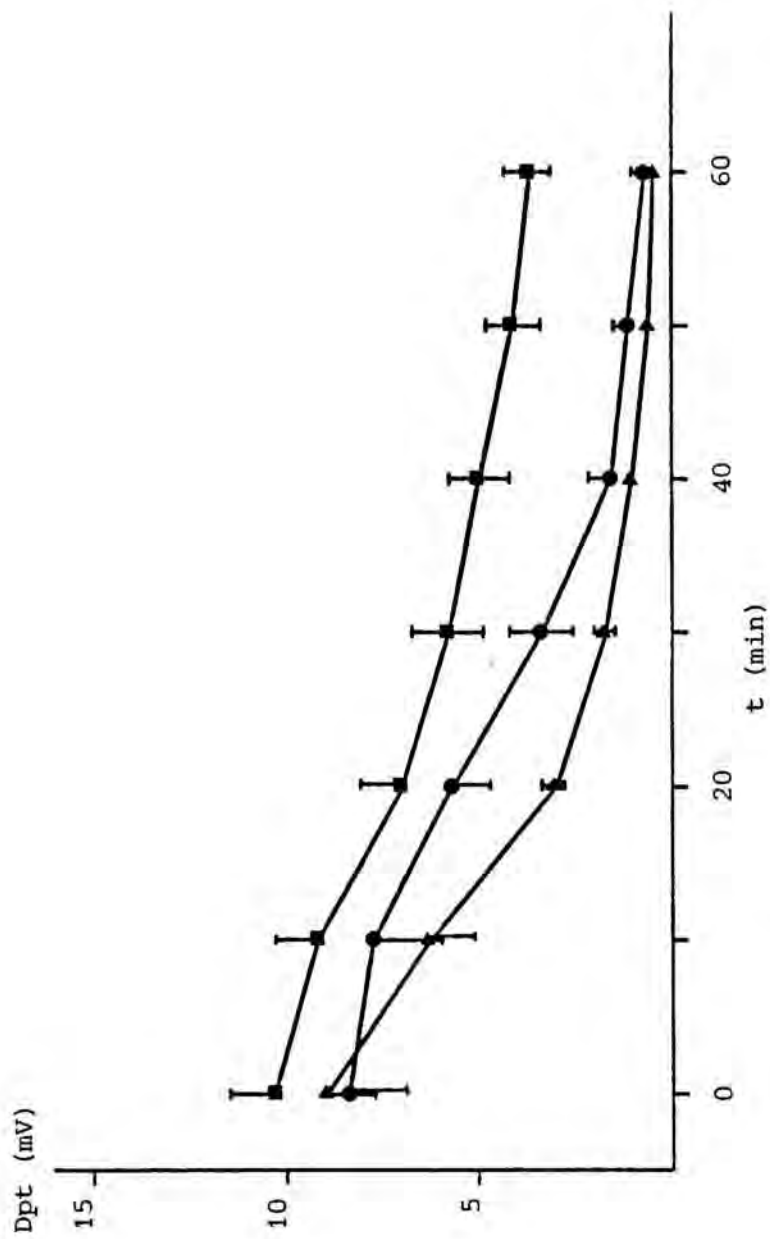


FIGURA 16: Dpt al còlon descendent de rata. Efecte de la presència de substrats metabolitzables. Rg (n=6) (●), 37°C; RgG (n=4) (▲), 37°C; RgGB (n=25) (■), 31°C. La dispersió representa l'error estàndard.

HIPOTESI: 3

0 0 0 0 0 0 0 -2 -2 0 0
SQ(Ho)= 314.1733290286011 GL(Ho)= 1/ 907 V(Ho)= 314.1733290286011 F= 24.07027723706641 P= 0.000001100770985
= 1.701335892560434 l.f.: 1.020759858955742 * 2.381911926165126

La hipòtesi 1 ha sigut acceptada i la 2 i 3 rebutjades.

2. RgG (P<D)

3. RgGB (P>D)

Dels valors que s'obtenen es dedueix el següent:

- Quan s'utilitza medi RgG, la Dpt és menor en la zona proximal que en la distal. Aquesta diferència és de 1,67 mV, amb uns límits fiducials de 0,99 i 2,34 mV.

- Quan s'utilitza medi RgGB, la Dpt és menor en la zona distal que en la proximal. Aquesta diferència és de 1,70 mV, amb uns límits fiducials de 1,02 i 2,38 mV.

Amb l'ordinador s'ha fet la simulació dels sis casos possibles de combinacions entre medis i zones, considerant la temperatura igual a 31°C i un temps de muntatge de 5 min. En cada cas s'han considerat els temps 0, 10, 20, 30, 40, 50 i 60 min. Les estimacions corresponents als sis casos són les següents:

1. Ringer - proximal

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 0 31 0 961 0 0 1 0 5 0
= 13.63476869841341 l.f.: 12.1937131098862 ~ 15.07582428694062

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 10 31 100 961 10 0 1 0 5 0
= 11.39463270747034 l.f.: 10.18349174353444 ~ 12.60577367140624

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 20 31 400 961 20 0 1 0 5 0
= 9.453907024723125 l.f.: 8.347113361475992 ~ 10.56070068797026

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 30 31 900 961 30 0 1 0 5 0
= 7.812591650171979 l.f.: 6.708336763126248 ~ 8.91684653721771

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 40 31 1600 961 40 0 1 0 5 0
= 6.470686583816784 l.f.: 5.295915589193663 ~ 7.645457578439905

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 50 31 2500 961 50 0 1 0 5 0
= 5.428191825657538 l.f.: 4.124774371408447 ~ 6.731609279906629

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 60 31 3600 961 60 0 1 0 5 0
= 4.685107375694263 l.f.: 3.192021200258758 ~ 6.178193551129768

2. Ringer - distal

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 0 31 0 961 0 0 -1 0 5 0
= 13.66928455427311 l.f.: 12.2301564621259 ~ 15.10841264642032

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 10 31 100 961 10 0 -1 0 5 0
= 11.42914856333004 l.f.: 10.21966528184796 ~ 12.63863184481212

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 20 31 400 961 20 0 -1 0 5 0
= 9.488422880582831 l.f.: 8.382563971209193 ~ 10.59428178995647

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 30 31 900 961 30 0 -1 0 5 0
= 7.847107506031685 l.f.: 6.742725174466165 ~ 9.951489837597205

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 40 31 1600 961 40 0 -1 0 5 0
= 6.50520243967649 l.f.: 5.329139704833286 ~ 7.681265174519694

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 50 31 2500 961 50 0 -1 0 5 0
= 5.462707281517244 l.f.: 4.156915072491482 ~ 6.768500290543006

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 60 31 3600 961 60 0 -1 0 5 0
= 4.719623231553969 l.f.: 3.223271120657437 ~ 6.215975342450501

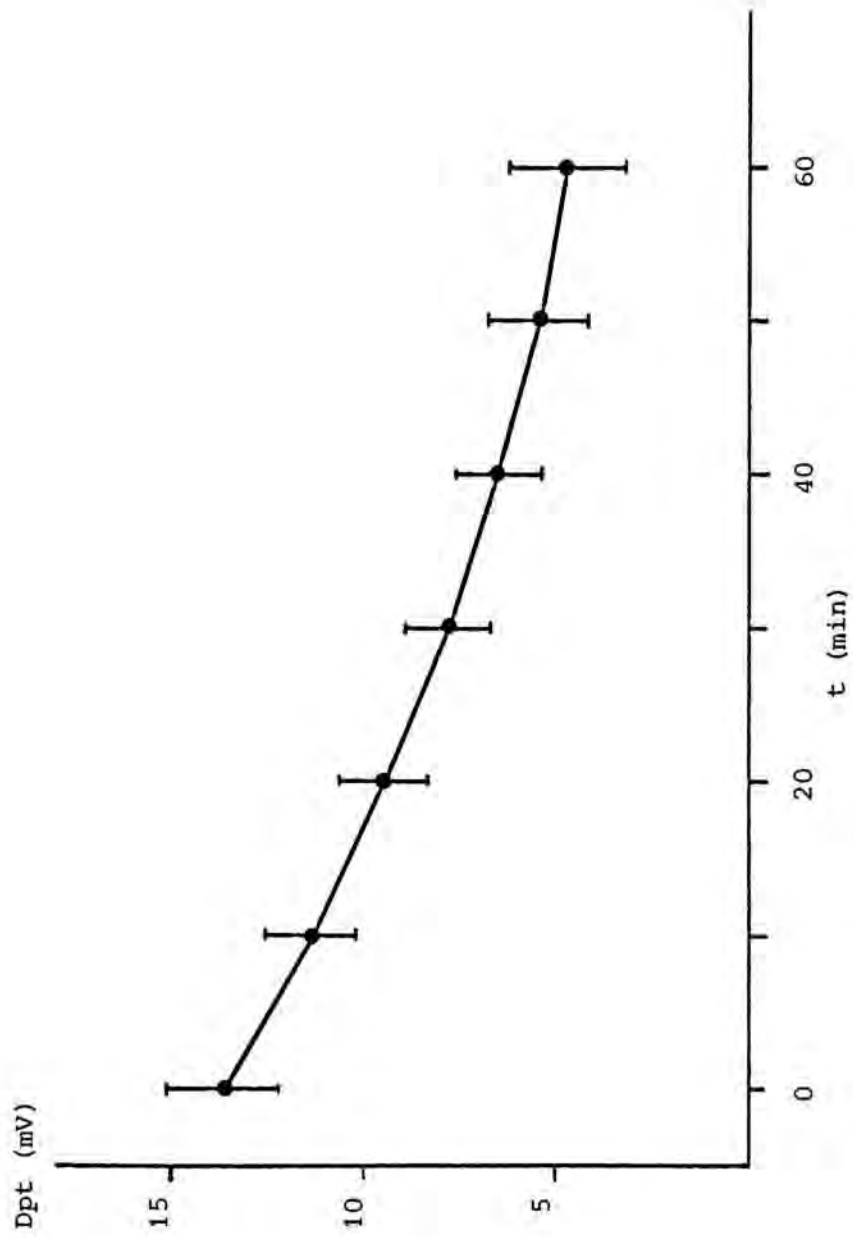


FIGURA 17: Dpt al c3lon descendent de rata. Medi Rg, 310C.
La dispersi33 representa l'error est3ndard.
Dades obtingudes per simulaci33 a partir del model lineal.

3. Ringer amb glucosa - proximal

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 0 31 0 961 0 0 0 1 0 5
* = 12.38368212310426 l.f.: 11.53102100562963 ~ 13.23634324057989

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 10 31 100 961 0 10 0 1 0 5
* = 9.944426933307814 l.f.: 9.288274075782386 ~ 10.60057979083324

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 20 31 400 961 0 20 0 1 0 5
* = 7.804582051707206 l.f.: 7.217710560134527 ~ 8.391453543279885

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 30 31 900 961 0 30 0 1 0 5
* = 5.964147478302675 l.f.: 5.380382828356394 ~ 6.547912128248956

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 40 31 1600 961 0 40 0 1 0 5
* = 4.423123213094093 l.f.: 3.828608868783804 ~ 5.017637557404382

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 50 31 2500 961 0 50 0 1 0 5
* = 3.181509256081462 l.f.: 2.566729248314977 ~ 3.796289263847947

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 60 31 3600 961 0 60 0 1 0 5
* = 2.239305607264801 l.f.: 1.552605721255387 ~ 2.926005493274215

4. Ringer amb glucosa - distal

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 0 31 0 961 0 0 0 -1 0 5
* = 14.05050215980498 l.f.: 13.18035694989492 ~ 14.92064736971504

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 10 31 100 961 0 10 0 -1 0 5
* = 11.61124697000853 l.f.: 10.93402345469841 ~ 12.28847048531865

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 20 31 400 961 0 20 0 -1 0 5
* = 9.471402088407936 l.f.: 8.863072889526073 ~ 10.0797312872898

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 30 31 900 961 0 30 0 -1 0 5
* = 7.630967515003405 l.f.: 7.028011198486928 ~ 8.233923831519882

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 40 31 1600 961 0 40 0 -1 0 5
* = 6.089943249794823 l.f.: 5.479264052206568 ~ 6.700622447383078

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 50 31 2500 961 0 50 0 -1 0 5
* = 4.848329292782192 l.f.: 4.220857703330328 ~ 5.475800882234056

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 1 60 31 3600 961 0 60 0 -1 0 5
* = 3.906125643965331 l.f.: 3.211010567826198 ~ 4.601240720104864

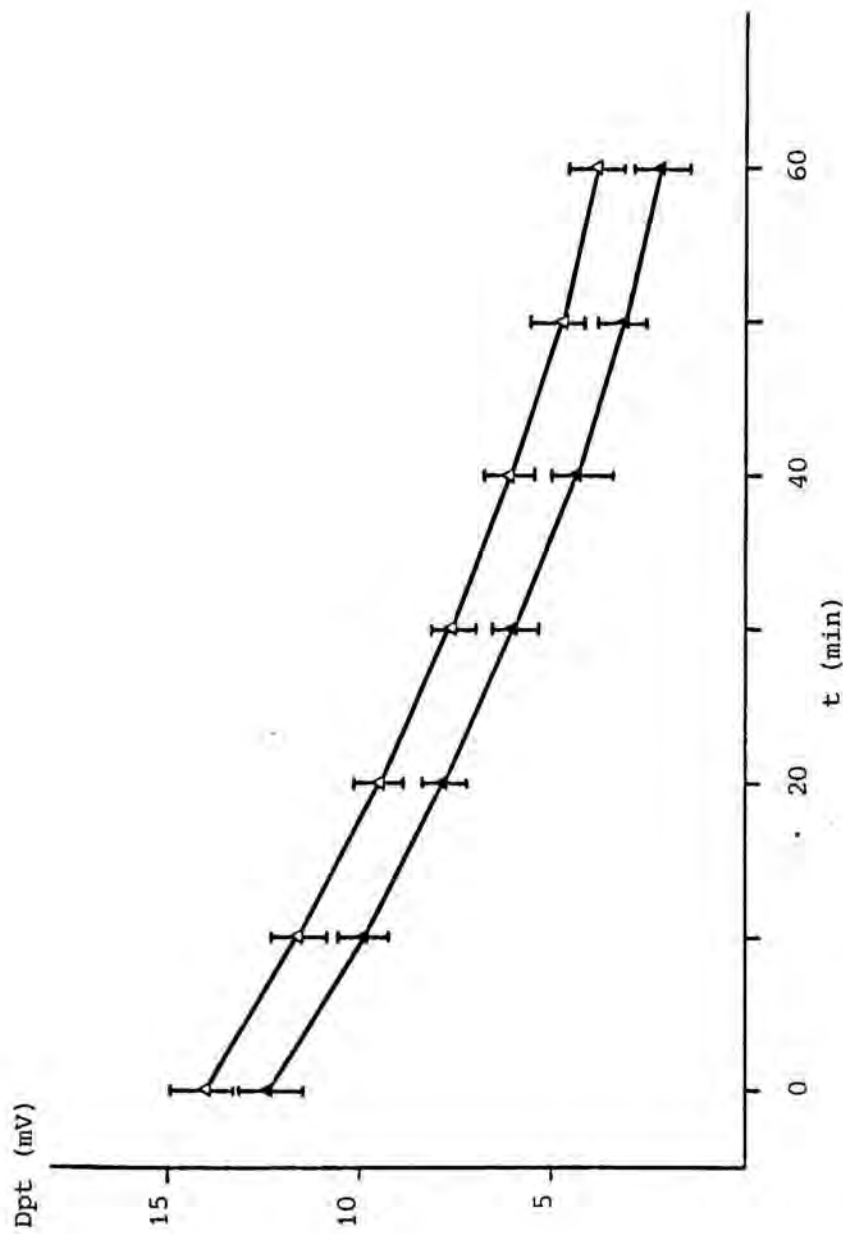


FIGURA 18: Dpt al c6lon descendent de rata. Medi RgG, 310C.
 Variaci6n de la Dpt en funci6n de la zona: proximal (▲),
 distal (■).
 La dispersi6n representa l'error est6ndard.
 Dades obtingudes per simulaci6n a partir del model
 lineal

5. Ringer amb glucosa i àcid β -hidròxibutíric - proximal

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 0 31 0 961 0 0 -1 -1 -5 -5
= 11.85891393933708 l.f.: 11.05729655662844 ~ 12.66053132204572

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 10 31 100 961 -10 -10 -1 -1 -5 -5
= 9.88123794452984 l.f.: 9.290932183479619 ~ 10.47154370558006

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 20 31 400 961 -20 -20 -1 -1 -5 -5
= 8.202972257918449 l.f.: 7.683174402725736 ~ 8.722770113111162

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 30 31 900 961 -30 -30 -1 -1 -5 -5
= 6.824116879503126 l.f.: 6.30232028550854 ~ 7.345913473497912

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 40 31 1600 961 -40 -40 -1 -1 -5 -5
= 5.744671809283753 l.f.: 5.21465550097553 ~ 6.274688068469953

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 50 31 2500 961 -50 -50 -1 -1 -5 -5
= 4.96467394726033 l.f.: 4.431670450532746 ~ 5.497603643967914

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 60 31 3600 961 -60 -60 -1 -1 -5 -5
= 4.484012593432876 l.f.: 3.908405686529923 ~ 5.059619500335829

6. Ringer amb glucosa i àcid β -hidròxibutíric - distal

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 0 31 0 961 0 0 1 1 -5 -5
= 10.15757804677666 l.f.: 9.33740371176219 ~ 10.97775238179113

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 10 31 100 961 -10 -10 1 1 -5 -5
= 8.179902051969417 l.f.: 7.561567769119499 ~ 8.798236334819335

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 20 31 400 961 -20 -20 1 1 -5 -5
= 6.501636365358913 l.f.: 5.946781496333747 ~ 7.056491234382279

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 30 31 900 961 -30 -30 1 1 -5 -5
= 5.12278098694269 l.f.: 4.56263782501354 ~ 5.68292414887184

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 40 31 1600 961 -40 -40 1 1 -5 -5
= 4.043335916723317 l.f.: 3.472164040994581 ~ 4.614507792452053

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 50 31 2500 961 -50 -50 1 1 -5 -5
= 3.263301154699894 l.f.: 2.686047562737033 ~ 3.840554746662755

ESTIMACIO corresponent a la població per X... = 1 60 31 3600 961 -60 -60 1 1 -5 -5
= 2.78267670087244 l.f.: 2.162711616013265 ~ 3.402641785731615

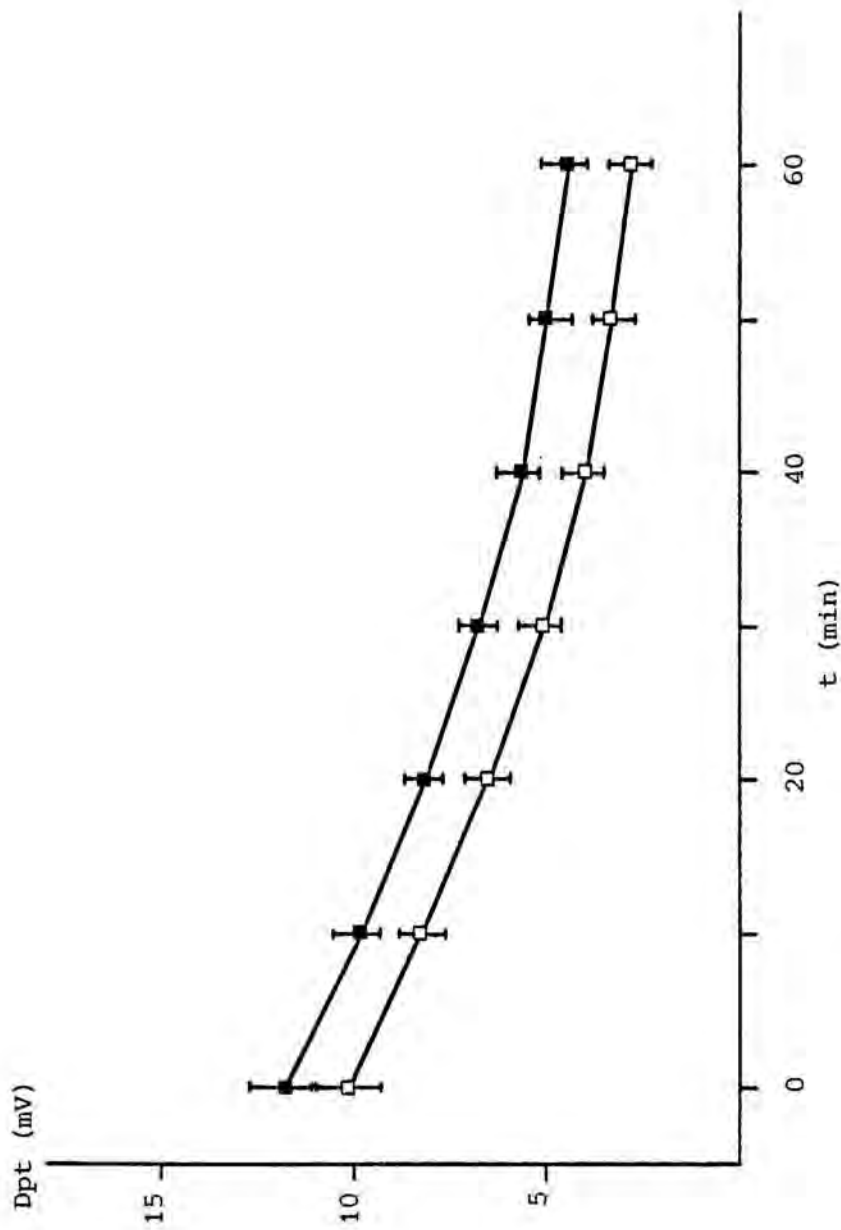


FIGURA 19: Dpt al c6lon descendent de rata. Medi RgGB, 31°C.
 Variaci6 de la Dpt en funci6 de la zona: proximal (■),
 distal (□).
 La dispersi6 representa l'error est6ndard.
 Dades obtingudes per simulaci6 a partir del model
 lineal.

En les figures 17, 18 i 19 es tenen les representacions gràfiques d'aquests experiments simulats. En el cas del medi Ringer, no hi ha diferència significativa entre la zona proximal i la distal i per això es representen conjuntament ambdues zones.

4.1.3. Dpt al teixit sencer i a la mucosa aïllada del còlon

S'han fet experiments per comparar la resposta del teixit quan s'han tret les capes musculars i serosal, en front del teixit sencer. La Dpt mesurada en ambdos casos mostra un valor inicial molt inferior en la mucosa aïllada que en el teixit sencer. En el primer cas, aquesta és de $10,3 \pm 1,2$ mV i en el segon cas de $3,4 \pm 0,6$ mV. El nivell de disminució de la Dpt en front del temps no varia massa d'un tipus de preparació a l'altra, encara que en el cas de la mucosa aïllada els valors són massa baixos com per que l'estimació sigui fiable.

Aquestes mesures s'han obtingut a partir d'experiments realitzats amb medi Ringer amb glucosa i àcid β -hidròxibutíric i a 31°C . En les taules XI i XII es tenen els valors individuals de la Dpt mesurats en ambdos casos. En la figura 20 es té la representació gràfica d'aquestes dades.

4.1.4. Dpt, Icc i R al còlon sencer

S'ha posat a punt la tècnica de la mesura de la Icc, emprant el còlon descendent de la rata per a fer les primeres mesures i la comprovació de la funcionalitat del sistema. Tots els experiments de mesura d'aquest paràmetre s'han fet amb medi Ringer amb glucosa i àcid β -hidròxibutíric, a 31°C . Com s'ha especificat en un apartat anterior, cada mesura de la Icc va acompanyada de la

TAULA XII

DIFERÈNCIA DE POTENCIAL TRANSMURAL (DP) EN EL CÒLON DESCENDENT DE RATA

MEPI D'INCUBACIÓ : Ringer-bicarbonat amb 100M de glucosa i 1mM d'acid beta-hidroxibutíric
 PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Mucosa aïllada
 TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 31°C

Caobra	to	Expressió	Temps (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	
050713	10,5	M	1.7	1.6	1.3	1.5	1.8	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	0.8	0.9	0.9	0.9	0.9	0.8	0.9
		P	100.0	94.1	76.5	88.2	102.9	117.6	58.8	58.8	58.8	58.8	58.8	52.9	50.0	54.7	52.9	52.9	45.9	47.1
050714	8,5	M	2.3	2.6	2.0	1.3	1.2	1.0	1.0	1.0	1.2	1.1	1.2	1.0	1.1	1.1	1.1	1.1	1.2	0.9
		P	100.0	113.0	87.0	58.7	52.2	45.7	45.7	53.5	49.1	53.5	49.1	51.3	44.8	49.1	47.8	49.1	51.3	39.1
090713	9,7	M	4.1	3.2	1.9	1.4	1.2	1.1	1.1	1.0	1.0	1.0	1.1	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9
		P	100.0	77.1	47.0	34.9	29.6	27.2	26.0	24.8	26.5	26.5	25.3	24.8	24.8	24.8	23.0	21.7	21.2	
090714	9,7	M	4.4	3.4	1.8	1.6	1.6	1.8	1.6	1.4	1.7	1.4	1.2	0.9	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	0.7
		P	100.0	77.3	40.9	37.5	37.5	41.6	37.5	32.9	39.8	31.4	27.9	21.6	17.7	17.7	15.9	15.9		
090724	9,0	M	4.7	4.1	3.8	3.0	2.2	1.8	1.7	1.7	1.9	1.9	1.6	1.5	1.4	1.4	1.2	1.1	1.0	1.0
		P	100.0	87.4	80.0	63.7	47.4	37.9	36.8	35.8	46.6	34.7	32.6	29.5	30.5	26.3	22.7	22.1		

VALORS MESSURATS

mitjana	3.4	3.0	2.2	1.8	1.6	1.5	1.3	1.3	1.3	1.4	1.2	1.1	1.1	1.1	1.0	1.0	0.9	0.9
error	0.6	0.4	0.4	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
n	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

PERCENTATGES

mitjana	100.0	89.8	66.3	56.6	53.9	54.0	41.0	41.2	43.0	39.4	36.1	35.9	34.7	33.8	31.5	29.1
error	0.0	6.6	9.3	9.7	12.9	16.2	5.4	6.4	5.4	4.8	6.7	6.7	7.2	7.1	6.0	
n	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	

to: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.

M : Valors mesurats de la DP expressats en mV.

P : Percentatge de la DP respecte el valor obtingut al temps 0.

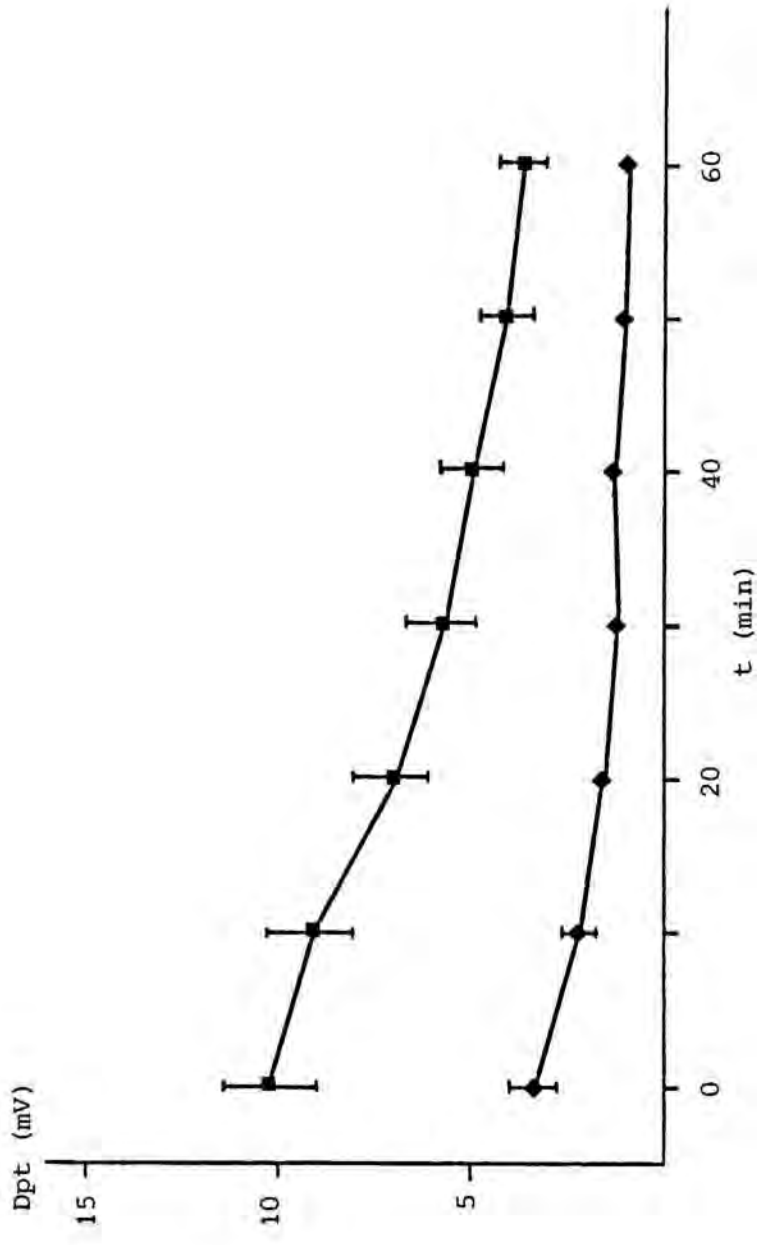


FIGURA 20: Dpt al còlon descendent de rata. Medi RgGB, 31°C.
 Efecte del tipus de preparació: budell sencer (■) (n=25),
 mucosa aïllada (◆) (n=5).
 La dispersió representa l'error estàndard.

corresponent mesura de la Dpt. D'aquesta forma es pot obtenir també el valor de la R per càlcul matemàtic.

S'han tabulat els valors obtinguts de Icc i de R en diversos experiments (taules XIII i XIV). Es tenen uns valors mitjos de Icc i de R que es poden comparar amb els valors mitjos de la Dpt de tots els experiments fets en aquestes condicions (taula XI). En la figura 21 es mostra l'evolució en front del temps dels tres paràmetres electrofisiològics. La Icc segueix una evolució similar a la de la Dpt, a diferència de l'evolució de la R que, relativament, es manté força constant.

TAULA XIII

INTEGRISSA DEL CORRENT DE CURT-CIRCUIT EN EL CÒDOL DESPREMENT DE B.L.L.A.

MEDI D'INCUBACIÓ : Ringer-bicarbonat amb 10mM de glucosa i 1mM d'acid beta-hidroxibutíric
 PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer
 TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 31°C

Zona	Caebra to (min)	Tests (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
Proximal	191012	4,5	-----	-----	-----	-----	-----	-----	80,9	117,3	111,3	111,3	70,8	63,7	89,0	99,1	-----	131,5
	191013	4,5	-----	-----	-----	35,4	78,9	93,1	111,3	101,2	101,2	59,7	76,9	92,0	121,4	-----	-----	172,0
	231012	4,0	-----	-----	-----	26,3	23,3	26,2	18,2	12,1	10,1	10,1	6,1	6,1	5,1	-----	-----	3,0
	231014	4,0	-----	-----	-----	-----	28,3	22,3	22,3	16,2	14,2	13,1	13,1	12,1	12,1	10,1	-----	-----
	251014	4,0	-----	79,9	87,0	63,7	55,6	45,5	38,4	32,4	24,3	18,2	14,2	11,1	10,1	9,1	-----	5,1
Distal	191014	4,5	-----	-----	-----	-----	-----	21,2	19,2	16,2	12,1	7,1	10,1	9,1	6,1	4,0	-----	-----
	231012	4,0	-----	-----	-----	-----	41,5	34,4	28,3	23,3	16,2	16,2	11,1	9,1	9,1	10,1	-----	5,1
	251014	4,0	-----	62,7	55,6	60,7	50,6	35,4	27,3	21,2	19,2	15,2	12,1	12,1	11,1	9,1	-----	5,1

VALORS MESURATS ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL

Mitjana	-----	71,3	71,3	62,2	39,6	37,3	41,2	44,5	38,6	36,5	25,1	25,3	29,4	33,5	-----	-----	48,4	
Error	-----	8,6	15,7	1,5	4,8	7,7	10,3	15,3	14,8	15,3	8,8	9,9	13,3	16,9	-----	-----	27,1	
n	-----	2	2	2	6	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7

tc: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DP.
 Resultats expressats en $\mu\text{M}\cdot\text{cm}^2$.

TAULA XIV

RESISTÈNCIA EN EL CÀNON RESOLUCIÓ DE RATA

MEDI D'INCUBACIÓ : Rinquer-bicarbonat amb 10cm de glucosa i 1cm d'acid beta-hidroxibutíric
 PREPARACIÓ DEL TEIXIT : Intestí sencer
 TEMPERATURA D'INCUBACIÓ : 31°C

Zona	Cobra	tg (min)	Temps (min)															
			0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
Proximal	191012	4,5	-----	-----	-----	-----	-----	43,3	51,2	53,9	42,2	42,4	47,1	47,9	40,4	-----	35,0	
	191013	4,5	-----	-----	-----	-----	225,0	107,7	96,7	89,8	88,9	84,0	57,0	57,6	64,1	53,2	-----	41,9
	231013	4,0	-----	-----	-----	-----	129,3	133,6	139,6	130,9	132,2	118,6	116,6	123,5	131,1	117,6	-----	135,0
	231014	4,0	-----	-----	-----	-----	136,3	129,4	174,9	172,8	165,0	175,6	169,3	157,0	148,8	158,4	-----	158,9
	251014	4,0	-----	175,2	120,9	157,0	151,9	153,8	141,5	149,1	156,4	148,4	140,8	144,1	136,6	131,5	-----	123,5
Distal	191014	4,5	-----	-----	-----	-----	-----	235,8	234,4	246,9	264,5	225,4	198,0	210,8	196,7	200,0	-----	-----
	231012	4,0	-----	-----	-----	-----	77,1	72,7	70,7	64,4	74,1	61,7	72,1	65,9	58,9	49,5	-----	55,6
	251014	4,0	-----	111,6	107,9	106,7	110,7	117,0	106,2	94,3	97,8	92,1	90,9	74,4	73,1	55,9	-----	49,4

VALORS MESURATS ACUMULATS : PROXIMAL I DISTAL

Mitjana	-----	143,4	124,4	132,9	146,9	142,2	129,3	123,5	129,1	118,5	111,7	112,4	106,5	101,7	-----	87,9
Error	-----	31,8	26,5	24,2	21,5	20,3	21,8	22,7	24,0	21,8	18,7	20,9	19,3	20,9	-----	17,4
n	-----	2	2	2	2	6	7	8	8	8	8	8	8	8	8	7

to: Temps transcorregut des de l'extracció de l'intestí fins a la primera mesura de la DF.
 Resultats expressats en Oha.cm².

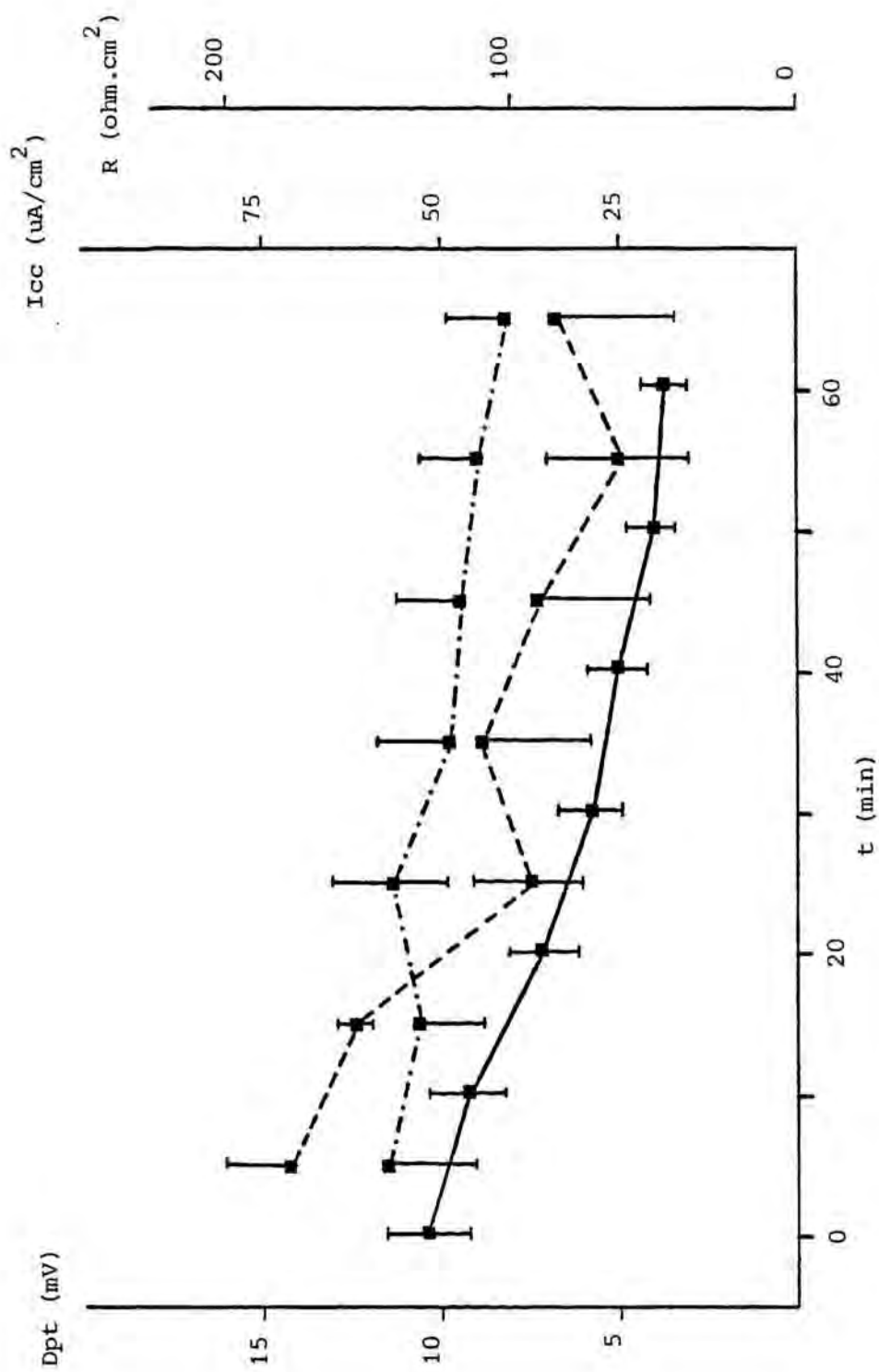


FIGURA 21: Dpt (—), Icc (---) i R (-.-) al còlon descendent de rata. Medi RgGB, 31°C. Dpt (n=25), Icc (n=8), R (n=8). La dispersió representa l'error estàndard.

4.2. PARÀMETRES ELÈCTRICS A L'ILI, CEC I RECTE DE POLLASTRE

S'ha fet un estudi de les característiques elèctriques de diferents segments del budell del pollastre així com de l'efecte de diferents substàncies sobre els paràmetres elèctrics intestinals en aquesta espècie animal.

Els segments estudiats són el cec, l'ili i el recte. Els paràmetres elèctrics mesurats són la Dpt, i la Icc, seguint el mètode descrit. La R del teixit s'obté per càlcul a partir dels altres dos paràmetres. Tots els experiments s'han realitzat emprant Ringer amb glucosa com a medi d'incubació.

Els factors de variació que s'han considerat són: edat del pollastre, dieta que se li ha donat, segment del budell, zona dintre del segment, tipus de preparació, temps de muntatge, temperatura del medi d'incubació, temps transcorregut des de que el teixit està en condicions semblants a les fisiològiques, presència d'àcid β -hidròxibutíric en el medi d'incubació, addició de leucina al medi, tractament amb amiloride, ouabaïna, 2,4,6-triaminopirimidina (TAP) o tritó.

Els resultats obtinguts en tots els experiments s'han tractat estadísticament pel mètode dels models lineals, de forma similar a com s'ha fet amb els de la rata. No s'ha considerat necessari detallar els passos seguits en aquest cas doncs, bàsicament, són els mateixos que en el model descrit anteriorment pel còlon de rata. Paral·lelament s'han fet els models lineals corresponents a la Dpt, Icc i, quan ha sigut possible, de la R. En els tres casos el model inicial coincideix, com a terme general, excepte en la resposta considerada a la que es refereixen tots els

càlculs, que en un cas és la Dpt, en l'altre la Icc i en el tercer el cocient entre Dpt i Icc.

Degut al gran nombre de dades experimentals que es tenen no és factible fer una anàlisi completa del conjunt de tots els resultats. Per aquesta raó s'han fet les següents anàlisis parcials:

1. Model lineal per l'ili (I).
2. Model lineal pel cec (C).
3. Model lineal pel recte sense considerar els tractaments ni les variacions fets en el medi general d'incubació (afegir leucina o treure el ió sodi) (Re).
4. Model lineal pel recte considerant les variables significatives del model anterior, i a més, els tractaments fets (Ret).
5. Model lineal pels tres segments alhora sense considerar els tractaments ni les variacions en el medi d'incubació realitzats (T).
6. Model lineal pels tres segments alhora a partir de les variables significatives de les cinc anàlisis anteriors fetes (TtDpt) (TtIcc).

Aquest esquema s'ha seguit de forma idèntica per a l'estudi de la Dpt i de la Icc, excepte en el cas número 6 en que les variables considerades com a possibles causes de variació difereixen degut a que en els models parcials s'obtenien diferents variables significatives.

La definició de les variables considerades en cada cas en el model inicial es detallen a continuació en forma de

quadre. Els números corresponen al valor que pren la variable (X) indicada en el model considerat.

```

*****
Definició de les variables      I   C  Re   Ret   T     Tt
variables                        Dpt Icc   Dpt Icc
*****
Constant                        1   1   1   1   1   1   1   1
t                                2   2   2   2   2   2   2   2
t2                             3   3   3   3   3   3   3   3
tm                               4   4   4           4   4
T0                             5   5   5   4   4   5   5   4
T02                            6   5   5  26   6   5
edat                             6   6   7   6   6   6   7   6
pes                              7   8           7
t.pes                            14
zona budell (Re-I)                11   9   9
zona budell (C-I)                12  10  10
zona cec (D-Me)                   8           13
zona recte (D-P)                  12   9   9  14
zona recte (Me-P)                 13  10  10  15
t.zona budell (Re-I)              19  12  14
t.zona budell (C-I)              20  13  15
t.zona cec (D-Me)                 21
t.zona recte (D-p)                17  11   22
t.zona recte (Me-P)               18  12   23
tipus (M-S)                       7   9  11   8   8  10  11  13
t.tipus                           23           18   19
tipus.zona (Re-I)                 24  14
tipus.zona (C-I)                   25  15
tipus.zona C (D-Me)               24
tipus.zona Re (D-P)                19
tipus.zona Re (Me-P)               20
t.tipus.zona Re (D-P)              21
t.tipus.zona Re (Me-P)             22
dieta (Na-0Na)                    11   9   7   7   8   8   7

```

t.dieta			15		16		8
B		10	10		9		11
t.B			16		17	16	12
ONa medi	8	16		13	10		17 16
tONa medi	9	17		14	11		
ONa medi.zona (Re-I)							18 20
ONa medi.zona (C-I)							19 21
ONa medi.zona C (D-Me)		22					
tONa medi.zona C (D-Me)		23					
ONa medi.tipus	10	20					
tONa medi.tipus	11	21					
ONa medi.dieta							24 22
ouab		12		17	14		20
touab		13		18	15		21 18
touab.zona (Re-I)							25
touab.zona (C-I)							26
ouab.zona C (D-Me)		18					
touab.zona C (D-Me)		19					
leu				19	16		23
tleu				20	17		
leu.ouab				27	24		
amil	14			15	12		22 17
tamil	15			16	13		
TAPs				21	18		
tTAPs				22	19		
TAPm				23	20		
tTAPm				24	21		
amil.TAPm				25	22		
amil.TAPs				26	23		

Especificació de les variants considerades al dissenyar les variables:

t: temps transcorregut des de que el budell està en condicions semblants a les fisiològiques - tm: temps de muntatge - T^o: temperatura - tipus (M,S): tipus de preparació (mucosa aïllada, budell sencer) - zona budell (Re, C, I): recte, cec, ili - zona cec (D, Me): distal, medial - zona recte (D, Me, P): distal, medial, proximal - dieta (Na, ONa): dieta amb ió sodi, dieta pobre en aquest ió - B: àcid β-hidròxibutíric - ONa medi: absència de ió sodi en el medi d'incubació - tONa medi: temps transcorregut des de que en el medi no hi ha ió sodi - ouab: ouabaïna al costat serosal - touab: temps transcorregut des de que en el medi del costat serosal hi ha ouabaïna - leu: presència de leucina al costat mucosal - tleu: temps que fa que hi és aquest aminoàcid - amil: presència d'amiloride al costat mucosal - tamil: temps que fa que l'amiloride està en el medi - TAP: presència de 2,4,6-triaminopirimidina en el costat mucosal (m) o en serosal (s) - tTAP: temps transcorregut des de l'addició d'aquesta substància.

Dels paràmetres considerats en cada cas l'ordinador n'ha fet una tria, i en cada model s'han obtingut unes causes de variació estadísticament significatives. Els models finals que s'obtenen són els següents:

1. Dpt

- Ili (4 experiments, 9 cambres)

##Error##	314	2361.75137878894	7.5215012063342		
Causa # 2	1	304.0471878624109	304.0471878624109	40.4237371665059	0.000000000720039
Causa # 8	1	2077.041174019347	2077.041174019347	276.147156935929	0
Causa # 10	1	832.9513404050916	832.9513404050916	110.7426985059746	0

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 2: X(2)
- Causa # 8: X(8)
- Causa # 10: X(10)

t(p=0.05 / v= 314) = 1.967543677590121

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y+x)
b(1)	1	7.81085058192193	0.372778072087259	8.54450772080145 7.077293443042409	0
b(2)	65.0405660377359	-0.03089098146456783	0.004858626069957323	-0.02133142245884876 -0.0404505404702869	-0.2178535055725129
b(8)	0.355345911949685	-5.349473651751401	0.3219146672018764	-4.716092482574821 -5.982854819927981	-0.617124550070995
b(10)	-0.0220125786163522	2.720697409066039	0.2585369923626935	3.229380234712422 2.212014585219656	0.41748326085053

- Cec (19 experiments, 37 cambres)

IIErrorII	949	24551.64835002193	25.8710730769462			
Causa # 2	1	713.4651228858088	713.4651228858088	27.5777166553474	0.000000186339921	
Causa # 3	1	427.7189431851305	427.7189431851305	16.53270979185909	0.000051782173271	
Causa # 4	1	1323.555875450466	1323.555875450466	51.1596821482464	0.00000000046377	
Causa # 5	1	1152.507533794845	1152.507533794845	44.5481146140642	0.00000000060E393	
Causa # 6	1	948.6815384236271	948.6815384236271	36.6695855735714	0.000000002215729	
Causa # 7	1	820.5427765564474	820.5427765564474	31.7166116038548	0.0000000235895:1	
Causa # 10	1	942.3597514215439	942.3597514215439	36.42522861803069	0.000000002467074	
Causa # 11	1	549.0068309686084	549.0068309686084	21.22087589238:53	0.000004650602023	
Causa # 13	1	570.1185274591005	570.1185274591005	22.03691071350013	0.00000306811673	
Causa # 14	1	1244.058503420337	1244.058503420337	48.0868535959153	0.00000000039299	
Causa # 16	1	1537.288518943793	1537.288518943793	59.421134731117	0.000000000117879	
Causa # 20	1	355.5519539350485	355.5519539350485	12.7432240586836	0.000221714584706	
Causa # 24	1	304.63682102339	304.63682102339	11.77519077455094	0.00062615138164	

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 2: X(2)
- Causa # 3: X(3)
- Causa # 4: X(4)
- Causa # 5: X(5)
- Causa # 6: X(6)
- Causa # 7: X(7)
- Causa # 10: X(10)
- Causa # 11: X(11)
- Causa # 13: X(13)
- Causa # 14: X(14)
- Causa # 16: X(16)
- Causa # 20: X(20)
- Causa # 24: X(24)

t(p=0.05 | v = 949) = 1.96246288409066

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimació de b	Error típic de b	Limits fiduc.	r(y+x)
b(1)	1	-63.89312362149397	10.69089346958706	-42.91264198966215 -84.87360525332579	0
b(2)	66.0377985462098	-0.06677371453909773	0.0127152933355362E-0	0.04182042330778245-0.1202510543146463 -0.0917270057704:30:	
b(3)	6324.54768431983	0.0003093885668859415	0.000076908156632:722	0.0004587139684451895-0.053367903696043 0.0001600631653266935	
b(4)	5.85700934579439	-0.6473021558320478	0.09049866544856206-0.	4697014913369301 -0.2551614669006434 -0.824902820271655	
b(5)	34.0366562824507	1.863636265618389	0.279219775934878	2.411595108142235 -0.2212259892423384 1.315677423094543	
b(6)	80.9231568016615	0.2280038974806175	0.03765210556237116	0.3018947571546344 -0.0589948910127981 0.1541130378066006	
b(7)	1303.66458982347	-0.008747407865486676	0.001553230767902643-0.	005699250133050105-0.1217506356292105 -0.01179556559792325	
b(10)	0.518172377985462	9.344226231239461	1.548253966799576	12.38261717622976 0.2584041243303073 6.30583528624916	
b(11)	0.916926272066459	2.934473856941129	0.6370134351006474	4.184569079993244 0.04337266649579056 1.684358633889014	
b(13)	0.764797507788162	-0.1871277945681471	0.03986235414042417-0.	108899404095087 -0.1208240319286884 -0.2653561850412072	
b(14)	0.0207684319833853	-8.289422084815495	1.195394004023399	-5.9435069170356901 -0.19723966415347 -10.63533844957594	
b(16)	0.119418483904465	-4.57802233321929	0.5938919471034339	-3.412531429971106 -0.2658221909208907 -5.743513236672752	
b(20)	0.0259605390792316	-1.965586404306815	0.530209892062267	-0.925069170356901 -0.1331348259294111 -3.006103638256729	
b(24)	-0.00934579439252336-0.	6108050351039673	0.1779994385462216	-0.2614877435680311 -0.0650146443818273 -0.960122326399035	

- Recte sense tractaments (19 experiments, 45 cambres)

##Error##		569	16176,46340731528	28.4296369197105			
Causa # 2	1	7153,73934669056	7153,73934669056	251,6296415214087	0,000000000592058		
Causa # 3	1	4348,250458642402	4348,250458642402	152,9478013005409	0,000000000549483		
Causa # 5	1	828,9761573332118	828,9761573332118	29,15887247080795	0,000000098117714		
Causa # 6	1	778,6863716157083	778,6863716157083	27,38995133194398	0,00000023488225		
Causa # 7	1	355,862280382619	355,862280382619	12,51729951344883	0,000436113521232		
Causa # 9	1	5230,490317061054	5230,490317061054	183,9802010779361	0,00000000054385		
Causa # 11	1	3589,630572677471	3589,630572677471	126,2636797935591	0,000000000674582		
Causa # 12	2	4005,703854096017	2002,851927048009	70,4494374199839	4,613590031454E-28		
Causa # 17	2	1709,159056297306	854,579528148653	30,05945980112627	0,000000000003890214550809296		

MODEL FINAL:

Causa # 1: X(1)
 Causa # 2: X(2)
 Causa # 3: X(3)
 Causa # 5: X(5)
 Causa # 6: X(6)
 Causa # 7: X(7)
 Causa # 9: X(9)
 Causa # 11: X(11)
 Causa # 12: X(12) X(13)
 Causa # 17: X(19) X(20)

t(p=0,05 | v= 569)= 1,9641379056671

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y+x)
b(1)	1	276,098245047487	47,85964693427873	370,1011917429481 182,0952983520259	0
b(2)	32,6767641996558	-0,6732605712943588	0,04244262943978792	-0,5898973939954889 -0,7566237485932287	-0,2758650200294497
b(3)	1439,007297762478	0,00739353049914342	0,0005978335031327051	0,008567757943924117 0,006219303054362723	-0,174538523213094
b(5)	34,1230636833046	-15,44517045454413	2,860272050419873	-9,8272016997943 -21,06313920929396	0,1733511115996011
b(6)	1173,178674698795	0,2240411232125727	0,04280870704662805	0,3081233274154531 0,1399589190096923	0,1834519900020543
b(7)	101,5421686746988	0,068301583002234	0,01930525076369264	0,1062197578056114 0,03038340819885656	0,23604133279541
b(9)	0,614457831325301	-6,094778090131505	0,4493371775974648	-5,212217907186855 -6,977338273076155	-0,541985146158955
b(11)	0,85197934595525	-5,374416144217367	0,4782908471163303	-4,434986961462555 -6,313845326972179	-0,0783028660717228
b(12)	0,0395869191049914	-6,661692362484551	0,5669123210882756	-5,548198383445351 -7,775186341523751	-0,302652088995016
b(13)	-0,0929432013769363	2,39746982006456	0,65745116418702	3,68879457276925 1,10614506735987	-0,2279141656143452
b(19)	0,0051635111876075	4,388459255445784	0,5673089013259779	5,502732172762494 3,274186338129074	-0,1934365360432
b(20)	-0,0929432013769363	-2,55327389947549	0,6579205627429259	-1,26102718327428 -3,8455206156767	-0,2213606721182113

- Recte amb tractaments

##Error##		1415	61347.62409951325	43.35521137774788			
Causa # 2	1	1589.334376841679	1589.334376841679	36.6584391203639	0.000000001823833		
Causa # 3	1	589.8944922147016	589.8944922147016	13.60608041038097	0.000233993107592		
Causa # 6	1	1162.745843124795	1162.745843124795	26.8190560298266	0.000000255971719		
Causa # 7	1	17766.49471556374	17766.49471556374	409.789138398306	0.000000000201614		
Causa # 8	1	1758.391870214797	1758.391870214797	40.5577971906117	0.000000000298276		
Causa # 9	2	5527.301647171586	2763.650823585793	63.7443743384501	3.112524399137092E-27		
Causa # 10	2	1667.881938671429	833.940969335715	19.23508023221717	0.000000005725997629272379		
Causa # 13	1	8086.279874157531	8086.279874157531	186.5122926907888	0.00000000094215		
Causa # 15	1	3698.938419238933	3698.938419238933	85.3170426736154	0.00000000093363		
Causa # 19	1	936.6475104057695	936.6475104057695	21.60403514689136	0.000003663832041		
Causa # 20	1	3567.322234684574	3567.322234684574	82.281278797213	0.00000000074634		
Causa # 22	1	9140.831898796897	9140.831898796897	210.8358282272945	0.000000000237914		

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 2: X(2)
- Causa # 3: X(3)
- Causa # 6: X(6)
- Causa # 7: X(7)
- Causa # 8: X(8)
- Causa # 9: X(9) X(10)
- Causa # 10: X(11) X(12)
- Causa # 13: X(15)
- Causa # 15: X(17)
- Causa # 19: X(21)
- Causa # 20: X(22)
- Causa # 22: X(24)

t(p=0.05 | v= 1415)= 1.961637919408172

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y+x)
b(1)	1	0.3017638864483941	1.368742230096961	2.986740546901898 -2.38321277400511	0
b(2)	73.6435664335664	-0.08218473429202956	0.0135739851666863	-0.0555576864353656 -0.1088117821486935	-0.0862218485283365
b(3)	7279.19693006993	0.0003105296365897458	0.00008418535321995028	0.0004756708177247711 0.0001453884554547205	-0.043775567918725
b(6)	98.7468531468531	0.06397339331108487	0.0123531479711111	0.08820579679527653 0.03974098982689321	0.2356476924547073
b(7)	0.588811188811888	-5.065435775747095	0.2502283958622828	-4.574578263910962 -5.556293285583228	-0.4052632259431847
b(8)	0.80979020979021	-2.08157567484828	0.3268549184365351	-1.440404672698107 -2.722746676998453	0.0173030625234921
b(9)	0.02447552447552448	-4.331511968939243	0.4008952759002514	-3.545100594021709 -5.117923343856777	-0.2674546400675444
b(10)	-0.06783216783216783	0.894086610905723	0.4512713243175023	1.779317552628479 0.0088556691829674	-0.181844864343854
b(11)	-0.01048951048951049	2.47351127111545	0.4007915112749383	3.259719097409277 1.687303444821623	-0.1618521862049879
b(12)	-0.06783216783216783	-1.512614198310827	0.451292095747584	-0.627342510563183 -2.397885886058471	-0.166658697610832
b(15)	0.04475524475524476	-13.66415520018888	1.000527559688599	-11.7014823996908 -15.62682800068696	-0.1216967153920522
b(17)	0.03076923076923077	-10.07656419243654	1.090924208740118	-7.93656589737157 -12.21656248750151	-0.1405830346502173
b(21)	0.03776223776223776	-7.856908327322863	1.69037962127348	-4.54099556403798 -11.17282109060775	-0.0341555325763621
b(22)	2.062937062937063	0.2510568398482518	0.02767716109057351	0.3053494085450892 0.1967642711514144	0.01573736559045395
b(24)	3.153846153846154	0.1933992726949518	0.01331933767410787	0.2195269905378836 0.16727155485202	0.1621179826781461

- Les tres zones sense tractaments

##Error##		1153	40827.58828081958	35.40987708657379		
Causa # 2	1	2951.51069155628	2951.51069155628	83.352751672651	0.0000000028482	
Causa # 3	1	1945.21349261156	1945.21349261156	54.934206290965	0.00000000612739	
Causa # 4	1	1262.651604667817	1262.651604667817	35.6581753046122	0.000000003189004	
Causa # 5	1	536.2161515827553	536.2161515827553	15.14312377509128	0.000105366557831	
Causa # 6	1	3281.656976650144	3281.656976650144	92.6763165154966	0.00000000543593	
Causa # 7	1	1972.345527317101	1972.345527317101	55.790434161206	0.00000000659168	
Causa # 10	1	1258.226982680644	1258.226982680644	35.5332208469518	0.000000003388658	
Causa # 11	2	1670.954366785404	835.477183392702	23.59446719767029	0.0000000009061304057380102	
Causa # 13	2	3772.886833783264	1886.443416891632	53.2744977419565	7.423524973753609E-23	
Causa # 14	1	2495.889579544679	2495.889579544679	70.4856888783451	0.0000000010166	
Causa # 15	1	622.3859361534374	622.3859361534374	17.57661950172159	0.000029707693836	
Causa # 17	2	883.0176760262131	441.5088380131066	12.46852218474691	0.000004392548702042795	
Causa # 20	2	746.835945286234	373.417972643117	10.54558793666935	0.00002893970501928156	

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 2: X(2)
- Causa # 3: X(3)
- Causa # 4: X(4)
- Causa # 5: X(5)
- Causa # 6: X(6)
- Causa # 7: X(7)
- Causa # 10: X(10)
- Causa # 11: X(11) X(12)
- Causa # 13: X(14) X(15)
- Causa # 14: X(16)
- Causa # 15: X(17)
- Causa # 17: X(19) X(20)
- Causa # 20: X(24) X(25)

t(p=0.05 | v= 1153)= 1.962019592253299

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y+X)
b(1)	1	-9.91763496824696	4.700545149276465	-0.695073291095328 -19.14019664539859	0
b(2)	32.53390264730999	-0.3194617074725233	0.03499120009985142	-0.2508082873201592 -0.3881151276248874	-0.1921758987024507
b(3)	1449.98268146883	0.003532887241293558	0.0004766596055989931	0.004468102726314513 0.002597671756272603	-0.1212877681881966
b(4)	5.79803586678053	-0.5967314791210381	0.09993080610660058	-0.4006652796702221 -0.7927976785718541	-0.0933567235881734
b(5)	33.66601195559351	0.4999015522560199	0.1284626123085419	0.7519477144774189 0.2478553900346209	0.00864433143113846
b(6)	90.1801878736123	0.2287111579220323	0.02375762213454676	0.2753240780153637 0.1820982378287009	-0.1944130589896084
b(7)	1382.807856532878	-0.00882022016379417	0.001181816735458164	-0.006501472574372418 -0.01113896775321592	-0.268757382000813
b(10)	0.1784799316823228	-1.916360625811572	0.3214844354386184	-1.285601864876512 -2.547119386746632	-0.3965379412439314
b(11)	0.418445728437233	-3.19369372711426	0.618267660808057	-2.106316108949401 -4.532422636473451	-0.436873666652362
b(12)	0.3484201537147737	2.409549398818821	0.595110343712447	3.577167552735237 1.241931244902405	0.326532383176768
b(14)	0.01964133219470538	-2.835888986500337	0.3530052044580489	-2.143285859186263 -3.528492113814411	-0.233821438428769
b(15)	-0.04611443210930828	-0.4777312468169128	0.3981572653893517	0.3034611086749916 -1.258923602308817	-0.1185071278506963
b(16)	24.85089666951324	-0.0906140095645716	0.01079306701305802	-0.06943780062444897 -0.1117902185046942	-0.269765491069691
b(17)	18.40751494449189	0.0900521340185456	0.02147960711524746	0.1321955440125645 0.04790872402452672	-0.0133850534730454
b(19)	14.24978650725875	-0.0646916697258808	0.01758347834125911	-0.03019254072036889 -0.09919079873139271	-0.46577358857779
b(20)	12.39504696840307	0.02904893040710536	0.01806147564531197	0.06448589948821324 -0.00638803867400252	0.2687302359766236
b(24)	0.4133219470538002	-1.890826134998165	0.4227051716987239	-1.061470306378474 -2.720181963617856	-0.364481504322614
b(25)	-0.2630230572160547	1.00989045909415	0.4074446979764325	1.809304939283639 0.210475978904661	-0.225545336496263

- Les tres zones amb tractaments

##Error##		2692	112857.4099942242	41.923257798746				
Causa # 2	1	3814.915348500121	3814.915348500121	3814.915348500121	90.9975881839563	-0.000000000000001		
Causa # 3	1	3107.414128526389	3107.414128526389	3107.414128526389	74.1214851060391	-0.000000000000007		
Causa # 4	1	1928.49425418507	1928.49425418507	1928.49425418507	46.0005819071331	0.00000000001448		
Causa # 5	1	635.2689964067045	635.2689964067045	635.2689964067045	15.15314004117558	0.000101540374458		
Causa # 6	1	668.2932404246289	668.2932404246289	668.2932404246289	15.94087090351597	0.00006710026991		
Causa # 7	1	1044.989253010168	1044.989253010168	1044.989253010168	24.9262416109615	0.000000633687786		
Causa # 8	1	9953.424490973168	9953.424490973168	9953.424490973168	237.4201103061913	0.000000000000001		
Causa # 9	2	31032.55564702792	15516.27782351396	15516.27782351396	370.111452168159	0		
Causa # 12	2	2910.194240811268	1455.097120405634	1455.097120405634	34.7085889028681	0.0000000000001310155981886766		
Causa # 14	1	2802.876891972515	2802.876891972515	2802.876891972515	66.8573254833348	-0.000000000000003		
Causa # 15	2	1999.252300071816	999.626150035908	999.626150035908	23.84419061215726	0.00000000005475665768681391		
Causa # 18	1	3814.880965825603	3814.880965825603	3814.880965825603	90.9967680503044	0.000000000000003		
Causa # 20	1	451.1854676857325	451.1854676857325	451.1854676857325	10.76217573194487	0.001049165336554		
Causa # 21	2	5569.784076017299	2784.89203800865	2784.89203800865	66.4283308176482	6.915905902007389E-29		

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 2: X(2)
- Causa # 3: X(3)
- Causa # 4: X(4)
- Causa # 5: X(5)
- Causa # 6: X(6)
- Causa # 7: X(7)
- Causa # 8: X(8)
- Causa # 9: X(9) X(10)
- Causa # 12: X(14) X(15)
- Causa # 14: X(17)
- Causa # 15: X(18) X(19)
- Causa # 18: X(22)
- Causa # 20: X(24)
- Causa # 21: X(25) X(26)

t(p=0.05 | v= 2692)= 1.960841615461478

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y+X)
b(1)	1	114.7015939012639	28.07622200751019	169.7546184185253 59.6485693840025	0
b(2)	69.9327185540391	-0.09718879618667247	0.01018828914759236	-0.07721117483571882 -0.1171664175376261	-0.131128032614687
b(3)	6700.14880118038	0.0005338554670983388	0.00006200855891897644	0.0006554444299414628 0.0004122665042552148	-0.0775e52642079729
b(4)	5.79454075986721	-0.5927910292768957	0.08740171612677766	-0.4214101070327595 -0.7641719515210319	-0.0322143488591637
b(5)	34.92829214312062	-6.383397066380106	1.639836471289974	-3.167937470923224 -9.598856661836988	-0.0814364464863163
b(6)	1227.500781999262	0.09602941352687098	0.02405183712412333	0.1431912566881533 0.04886757036558864	-0.0808068065292406
b(7)	91.700848395426	0.04915981784702944	0.009846499537692997	0.06846724390716007 0.02985239178689881	-0.1171041780241284
b(8)	0.753596458871265	-3.941811734906209	0.2558215505324785	-3.440186192490244 -4.443437277322174	-0.1412766528874163
b(9)	0.410180745112505	-6.375217815127627	0.2611753916226349	-5.863094238299515 -6.887341391955739	-0.3850496687932033
b(10)	0.237919586863143	4.131981594463668	0.2677705107331256	4.657057155302555 3.606926033624781	0.2860530381733028
b(14)	0.423459977867945	-0.705003684371401	0.2592610317023917	-0.1966538641418738 -1.213373504600928	-0.3041591475692678
b(15)	-0.0962744374769458	-1.528377030010723	0.2434341709831507	-1.051041176921596 -2.00571288309985	-0.1931076227907971
b(17)	0.16599040944301	-4.713790149552278	0.576495265307558	-3.583374242220713 -5.844206056883843	-0.129874694268472
b(18)	0.0402065658428624	3.337927500593203	0.4840876363712506	4.287146683520335 2.388708317666071	-0.1068915083776692
b(19)	0.000737735153080044	-1.491263470973808	0.5409726706486507	-0.430501745538598 -2.552025196409018	0.03909744687308
b(22)	0.03098487642936186	-7.181219554833514	0.752809725338015	-5.705078916866609 -8.657360192800419	-0.155338359425237
b(24)	0.1239395057174474	1.728476571768895	0.5268821162849937	2.761608951822924 0.695344191714866	-0.127623575382053
b(25)	0.420509037255625	-0.3790231503003742	0.03356799247421936	-0.3132016337094272 -0.4448446668913212	-0.141613611336611
b(26)	0.2716709701217263	-0.1474001846144536	0.0481964175379024	-0.0528946433899771 -0.2419057258389301	0.00844975480122577

2. Icc

- Ili (4 experiments, 8 cambres)

##Error##	Ji1	168257.1742678014	541.01985295113			
Causa # 2	1	11486.06220175912	11486.06220175912	21.2303894932977	0.000005949907624	
Causa # 3	1	12445.9355990635	12445.9355990635	23.0045819797866	0.000002511297697	
Causa # 6	1	58619.9359544717	58619.9359544717	108.3509038285737	0.00000000240038	
Causa # 7	1	30440.16958530039	30440.16958530039	56.2644224962431	0.0000000013092	
Causa # 8	1	96885.87995194959	96885.87995194959	179.0800825948641	0.00000000743914	
Causa # 10	1	40949.95362609931	40949.95362609931	75.6902975052161	0.00000000235147	

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 2: X(2)
- Causa # 3: X(3)
- Causa # 6: X(6)
- Causa # 7: X(7)
- Causa # 8: X(8)
- Causa # 10: X(10)

t(p=0.05 | v= 311)= 1.967617112462701

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y/x)
b(1)	1	610.0875208289097	56.27629354231296	720.8177190287389 499.3573226290805	0
b(2)	65.0405660377359	0.9044986392636675	0.1963039040903981	1.290749560195172 0.5182477183321634	0.002663942471821803
b(3)	5233.68669811321	-0.007527434051483279	0.001569422180976544	-0.004439412111515297 -0.01061545599145126	0.0564549474741247
b(6)	92.6540880503145	-6.332614779151116	0.6083688953415489	-5.135577729987053 -7.529651828315177	-0.001457662408032584
b(7)	0.0314465408805031	26.04807521035944	3.472631532001098	32.88088443800237 19.21526598271651	0.1586688298134012
b(8)	0.355345911949686	-47.35688618679967	3.538828334389947	-40.39382699798613 -54.31994537561321	-0.50344943563872
b(10)	-0.0220125786163522	23.96938334982179	2.755096119911731	29.3903576218397 18.54840907780388	0.356792057070065

- Cec (9 experiments, 19 cambres)

##Error##	954	800134.251454547	838.715148275207			
Causa # 6	1	110722.4879826551	110722.4879826551	132.014413010606	-0.000000000000001	
Causa # 7	1	27871.38429223575	27871.38429223575	33.2310491226401	0.00000011043563	
Causa # 8	1	50911.38010506844	50911.38010506844	60.7016341719429	0.000000000000019	
Causa # 9	1	50243.86556934279	50243.86556934279	59.9057566477341	0.000000000000025	
Causa # 10	1	201200.7551006855	201200.7551006855	239.891643205025	0	
Causa # 13	1	23298.68077163368	23298.68077163368	27.7790151036937	0.000000168196373	
Causa # 14	1	47913.33066815699	47913.33066815699	57.1270600831395	0.000000000000097	
Causa # 16	1	96642.68419420181	96642.68419420181	115.2270641503789	-0.000000000000001	

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 6: X(6)
- Causa # 7: X(7)
- Causa # 8: X(8)
- Causa # 9: X(9)
- Causa # 10: X(10)
- Causa # 13: X(13)
- Causa # 14: X(14)
- Causa # 16: X(16)

t(p=0,05 | v= 954)= 1.96244974987893

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'Y	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y+x)
b(1)	1	-33.9807354160312	6.811929633311932	-20.61266581094533 -47.34880502111707	0
b(6)	80.9231568016615	1.688731320088343	0.1469771709089899	1.977166632376603 1.400296007800083	0.388192308008257
b(7)	1303.66458982347	-0.03664506137232653	0.006356871421394938	-0.02417002064139752 -0.04912010210325554	0.3204675693525746
b(8)	-0.0778816199376947	7.751514710234153	0.9949159287066357	9.703987225675054 5.799042194793252	0.142708882992403
b(9)	-0.260643821391485	-14.53112642767818	1.877435399697857	-10.84675379712727 -18.21549905822909	0.2368145617553066
b(10)	0.518172377985462	-52.6563983584389	3.399723450071328	-45.98461192418889 -59.32818479268891	-0.3414372195087051
b(13)	0.764797507788162	-1.105335355967812	0.2097217620803977	-0.693786936428967 -1.516923775506657	-0.04500378437013398
b(14)	0.0207684319833853	-50.9813095062406	6.745125727838061	-37.74433920874286 -64.21827980373834	-0.1119643243211269
b(16)	0.119418483904465	-34.77111324647655	3.239226726583149	-28.4142935670923 -41.1279329258608	-0.08470376999797413

- Recte sense tractaments (19 experiments, 38 cambres)

##Error##	S28	1237574.737299058	2343.89154791488			
Causa # 2	1	252115.4284177527	252115.4284177527	107.562753373009	0	
Causa # 5	1	20103.03632971691	20103.03632971691	8.57677751669036	0.003551814957492	
Causa # 6	1	28235.76019990828	28235.76019990828	12.04655014963852	0.000561366830472	
Causa # 7	1	184496.3048155706	184496.3048155706	78.7136695721686	-0.000000000000002	
Causa # 8	1	35863.72646812015	35863.72646812015	15.30093254528966	0.000103641787004	
Causa # 10	1	62536.00414705322	62536.00414705322	26.68041710491473	0.000000340769286	
Causa # 12	2	74667.69826585957	37333.84913292979	15.92814700242504	0.0000001919297917023183	
Causa # 14	1	417027.6735454753	417027.6735454753	177.9210620544547	-0.000000000000001	
Causa # 17	1	156442.1650014689	156442.1650014689	66.7446261072273	0.000000000000005	

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 2: X(2)
- Causa # 5: X(5)
- Causa # 6: X(6)
- Causa # 7: X(7)
- Causa # 8: X(8)
- Causa # 10: X(10)
- Causa # 12: X(12) X(13)
- Causa # 14: X(15)
- Causa # 17: X(19)

t(p=0.05 | v= 528)= 1.96446305830417

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limets fiduc.	r(y+X)
b(1)	1	-1206.896597560101	459.0751722103754	-305.060380768193 -2108.732814352009	0
b(2)	33.117254174397	2.260022746850718	0.2179123554176512	2.688103519016742 1.831941974684694	0.0650707340250506
b(5)	34.0163265306122	79.52089458721095	27.15308535661768	132.8621276892663 26.17966148515561	0.1445440529479746
b(6)	1166.397476808905	-1.402894845919507	0.4041979752956325	-0.608862855209895 -2.196926836629119	0.151750481651365
b(7)	103.4397031539889	2.279113338393625	0.2568862406200494	2.783756868278348 1.774469808508902	0.329570349847543
b(8)	1541.447124304267	-0.05207822239305263	0.01331365202045293	-0.02592404482775618 -0.07823239995834908	-0.0663364463715739
b(10)	0.415584415584416	-72.58857855619696	14.05309508154379	-44.98179241366816 -100.1953646987258	-0.1016907661100845
b(12)	0.0426716141001855	-14.29674356728154	3.022207476896031	-8.35972862438863 -20.23375851017445	-0.1988565745201644
b(13)	-0.1168831168831169	0.178770129585048	3.534852853221303	7.12285797627939 -6.765317717109294	-0.2103035588881722
b(15)	18.51280148423006	-1.295780530598166	0.09714439974678415	-1.104943945974476 -1.486617115221856	-0.5197054957363654
b(19)	31.0671614100186	-1.516722855199317	0.1856513359812779	-1.152017663939281 -1.881428046459353	-0.0200914721395

- Recte amb tractaments

#Error#		1269	3972390,4655749	3130,331336150433			
Causa # 5	1	53253,85274363593	53253,85274363593	17,01220957942605	0,000039556892976		
Causa # 6	1	122774,2347902164	122774,2347902164	39,2208432929658	0,00000000578214		
Causa # 7	1	899550,0320156255	899550,0320156255	287,3657563425408	0,000000000126017		
Causa # 8	1	124299,4264189511	124299,4264189511	39,7080733861899	0,00000000047127		
Causa # 9	2	48577,88191245838	24288,94095622919	7,75922365652795	0,0004473525258080503		
Causa # 11	1	38807,12212511633	38807,12212511633	12,39712923579518	0,000445232960967		
Causa # 12	1	394361,0322419311	394361,0322419311	125,9806039340557	0,000000000141486		
Causa # 14	1	553675,2782832358	553675,2782832358	176,8743365563741	0,000000000143897		
Causa # 18	1	71580,5561140028	71580,5561140028	22,86676662222918	0,000001939543534		
Causa # 20	1	149501,8265654759	149501,8265654759	47,759106149232	0,0000000001828		
Causa # 22	1	141798,5362578368	141798,5362578368	45,2982515365979	0,000000000157688		
Causa # 23	1	111503,2594478793	111503,2594478793	35,6202738541416	0,000000002143328		
Causa # 24	1	97990,70500356628	97990,70500356628	31,30362076114015	0,000000027023484		

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 5: X(5)
- Causa # 6: X(6)
- Causa # 7: X(7)
- Causa # 8: X(8)
- Causa # 9: X(9) X(10)
- Causa # 11: X(12)
- Causa # 12: X(13)
- Causa # 14: X(15)
- Causa # 18: X(19)
- Causa # 20: X(21)
- Causa # 22: X(23)
- Causa # 23: X(24)
- Causa # 24: X(25)

t(p=0.05 | v= 1269) = 1.961831147174472

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y+x)
b(1)	1	11,05356911635516	24,1259295565754	58,38456917498198 -36,27743094227166	0
b(5)	1235,666137071651	-0,0474333306657244	0,01150014347959756	-0,02487199099047449 -0,06999467034097431	0,0600633248888938
b(6)	101,2133956386293	0,8010304312449401	0,1279058922658398	1,051960194599207 0,5501006678906732	0,3033777322338984
b(7)	0,5420560747663551	-45,69302822732018	2,695457160186289	-40,40499641459227 -50,98106004004809	-0,407481417449155
b(8)	0,903426791277259	-24,64058294612173	3,910313436128535	-16,96920825190993 -32,31195764033353	-0,0336272430076254
b(9)	0,02725856697819315	-2,588126659760194	2,297597921401411	1,919372506128418 -7,095625825648806	-0,133793340637327
b(10)	-0,102803738317757	-6,699211612806123	2,686757568667068	-1,428246929688314 -11,97017629592393	-0,162304033628236
b(12)	1,534968847352025	-1,037472368656107	0,2946564651524615	-0,459406137603679 -1,615538599708535	-0,0784268221532773
b(13)	0,04984423676012461	-114,674407679205	10,21679460575279	-94,630781797355 -134,718033561055	-0,0950286740927973
b(15)	0,03426791272758567	-162,7364331588009	12,23636381327939	-138,7307535017508 -186,742112815851	-0,2188885234370058
b(19)	0,04205607476635514	47,12835703084166	9,855528544826616	66,46323990194961 27,79347415973371	0,05093563378002358
b(21)	0,06386292834890966	55,5147071503263	8,033040530083393	71,27417626875883 39,75523803189377	0,0783320276012317
b(23)	0,01246105919003115	125,759874833889	18,6853560144209	162,4173882590238 89,1023614087542	0,05450394008191326
b(24)	0,01246105919003115	116,5971217939152	19,53615997661629	154,9237689322243 78,2704746556061	0,02688497050460676
b(25)	0,01713395638629284	95,1644323108555	17,00894490815748	128,5331102122535 61,79575440945752	-0,06796690806574111

- Les tres zones sense tractaments

#Error#		1112	1885181.833065423	1695.307403835812		
Causa # 2	1	159159.9956778752	159159.9956778752	93.8826759782674	-0.000000000000002	
Causa # 6	1	242604.8759185381	242604.8759185381	143.1037671218913	0.000000000000002	
Causa # 7	1	64537.88529549848	64537.88529549848	38.06854447132992	0.000000000955029	
Causa # 9	1	63912.42566782168	63912.42566782168	37.69960865104056	0.00000001146651	
Causa # 10	1	149625.4736403591	149625.4736403591	88.2586092066935	-0.000000000000002	
Causa # 11	2	44821.31827955076	22410.65913977538	13.21923038209407	0.00000211907662943168	
Causa # 13	2	82437.85445778906	41218.92722889453	24.31354168313803	0.00000000004625089516694309	
Causa # 14	1	207052.9549282897	207052.9549282897	122.1329857109162	0.000000000000001	
Causa # 15	1	21964.16008500288	21964.16008500288	12.95585687604894	0.000332968858925	
Causa # 17	2	29058.02262682036	14529.01131341018	8.57013381793577	0.0002025031421739533	
Causa # 20	2	86730.16954678009	43365.08477339005	25.57948173603912	0.0000000001377012250194637	
Causa # 21	1	109856.1485792593	109856.1485792593	64.8001349670851	0	

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 2: X(2)
- Causa # 6: X(6)
- Causa # 7: X(7)
- Causa # 9: X(9)
- Causa # 10: X(10)
- Causa # 11: X(11) X(12)
- Causa # 13: X(14) X(15)
- Causa # 14: X(16)
- Causa # 15: X(17)
- Causa # 17: X(19) X(20)
- Causa # 20: X(24) X(25)
- Causa # 21: X(26)

t(p=0.05 | v= 1112)= 1.962095611753148

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y^x)
b(1)	1	129.72343671547	28.37051428529052	185.3890982978185 74.0577751331215	0
b(2)	32.73888396811338	1.3250698541193	0.1367558910993429	1.593397987926712 1.056741720311888	0.04580594607968988
b(6)	90.6634189548273	2.104380913183462	0.1759133587854704	2.449539742505191 1.759222083861733	0.07542480027367099
b(7)	1383.486271036315	-0.0513356987267136	0.008320249342399392	-0.03501057400329974 -0.06766082345012746	0.001521684829467605
b(9)	0.5270150575730735	-58.977383889925	9.605436013528884	-40.13060003880433 -77.82416774104567	-0.1535984315018718
b(10)	0.1868910540301151	-23.15051087848032	2.464234534434183	-18.31544711213645 -27.98557464482419	-0.161083939329298
b(11)	0.3968113374667848	-17.87499524361492	4.846214701407841	-8.366258644369 -27.38373184286084	-0.302193093082147
b(12)	0.3613817537643933	18.5045269553523	4.836352972698944	27.99391389997419 9.01514001073041	0.109182524545891
b(14)	0.02037201062887511	-14.08094935837887	2.550648813380586	-9.07633251452145 -19.08556620223629	-0.1750652979560412
b(15)	-0.05580159433126661	-1.47853621871811	2.978809001950255	4.36617185225926 -7.32324428969548	-0.1380116902733268
b(16)	24.77006200177148	-0.847453677385399	0.07668306823474666	-0.6969941657062354 -0.9979131890645626	-0.3150563587413079
b(17)	19.09229406554473	-0.572765942613743	0.1591270880697546	-0.2605433814010208 -0.8849885038264652	-0.1451569540157401
b(19)	13.77457927369353	-0.419826917318376	0.125905843658189	-0.1727876139825654 -0.6668662206541866	-0.2204587178696847
b(20)	12.85615589016829	0.098811222177956	0.1319407956015816	0.3576916782390383 -0.1600692338831263	0.1238602435941244
b(24)	0.4304694419840567	-16.1928919135826	3.725450299924141	-8.88320222829699 -23.50258159886821	-0.2524700961679583
b(25)	-0.2728077945084145	21.97999669506029	3.101882297795052	28.06618633973873 15.89380705038185	0.0612474275452602
b(26)	1136.795270150576	-0.175272350259839	0.0217733600892445	-0.1325509359756112 -0.2179937645440668	0.1914191042674599

- Les tres zones amb tractaments

##Error##		2358	5074732,173131735	2152,134085297598			
Causa # 4	1	203742,8526023084	203742,8526023084	94,6701481074934	-0,000000000000006		
Causa # 6	1	328303,1322623025	328303,1322623025	152,5477127587544	0,000000000000003		
Causa # 7	1	476900,3307302664	476900,3307302664	221,5941534443568	0		
Causa # 8	1	64176,88411576897	64176,88411576897	29,82011416212229	0,000000052374286		
Causa # 9	2	1518528,410125034	759264,205062517	352,7959573938562	0		
Causa # 10	1	192339,0278030643	192339,0278030643	89,3713031715994	0,000000000000005		
Causa # 11	1	34180,26860865869	34180,26860865869	15,88203487977945	0,0000069462493343		
Causa # 12	1	48780,43573535057	48780,43573535057	22,66607646270571	0,000002044194337		
Causa # 14	1	100098,2364911785	100098,2364911785	46,511152430048	0,000000000011531		
Causa # 15	1	379542,843196877	379542,843196877	176,3565038952458	-0,000000000000003		
Causa # 16	1	130111,940112442	130111,940112442	60,4571717911573	0,000000000000003		

MODEL FINAL:

- Causa # 1: X(1)
- Causa # 4: X(4)
- Causa # 6: X(6)
- Causa # 7: X(7)
- Causa # 8: X(8)
- Causa # 9: X(9) X(10)
- Causa # 10: X(11)
- Causa # 11: X(12)
- Causa # 12: X(13)
- Causa # 14: X(16)
- Causa # 15: X(17)
- Causa # 16: X(18)

t(p=0,05 | v= 2358)= 1,960966555316185

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y+x)
b(1)	1	391,1558161576731	44,63274201478183	478,6791305208051 303,6325017945411	0
b(4)	34,64706874736398	-11,71979639847583	1,204518677701593	-9,35777555624692 -14,08181724070474	0,1235642023826708
b(6)	92,1843104175453	0,9874501478467695	0,07994886985049034	1,144227207759067 0,8306730879344716	0,0565901399915717
b(7)	0,738506959088992	-45,36799615567	3,04768760385909	-39,39158269344451 -51,34440961789549	-0,239582809573595
b(8)	45,4166596372838	0,1729160878086692	0,03166509171585774	0,2350102736345492 0,1108219019827892	-0,159743799399201
b(9)	0,3256010122311261	-42,72148781801625	1,783903634492369	-39,22331245286616 -46,21966318316634	-0,298787728055601
b(10)	0,2720371151412906	28,2701589608712	1,698605417536979	31,6010673753435 24,9392505463989	0,114232755178593
b(11)	0,3648249683677773	-67,5010157365958	7,140214566232083	-53,49929377441894 -81,50273769877266	-0,1138861613260564
b(12)	22,00700126528891	-0,1899839364099241	0,04767204793917314	-0,0965006447776804 -0,2834672280421678	-0,0895545505248793
b(13)	0,3057781526781949	-7,413144923520993	1,557092151696894	-4,359739290494954 -10,46655055654703	-0,1197609536331993
b(16)	0,1703922395613665	-18,44885320394192	2,70514671984419	-13,14415095909877 -23,7535544878507	-0,0773520900599873
b(17)	0,02193167439898777	-88,19326637510482	6,641094915717864	-75,17030135468845 -101,2162313955212	-0,1839874791444237
b(18)	0,475115984816533	-1,925122395793503	0,2475907600084765	-1,439605196011069 -2,410639595575937	-0,0527394615923158

3. R

- Cec

##Error##		547	4258.0116882219	7.7842992472064			
Causa # 14	1	305.3444271382786	305.3444271382786	39.2256794659917	0.000000001035604		
Causa # 15	1	147.4259266022426	147.4259266022426	18.9388822192505	0.000016110044921		
Causa # 16	1	93.3310513648167	93.3310513648167	11.98965358356579	0.000576822815737		
Causa # 20	1	61.34091044768828	61.34091044768828	7.88008123784579	0.00517650445003		
Causa # 22	1	165.0399407019119	165.0399407019119	21.2016439066292	0.000005146293966		

MODEL FINAL:

Causa # 1: X(1)
 Causa # 14: X(14)
 Causa # 15: X(15)
 Causa # 16: X(16)
 Causa # 20: X(20)
 Causa # 22: X(22)

t(p=0.05 | v= 547)= 1.96430630434828

ANALISI DE LES VARIABLES

#	Mitjana d'X	Estimacio de b	Error tipic de b	Limits fiduc.	r(y x)
b(1)	1	0.2512656523832879	0.1348614661924096	0.5161748806386905 -0.0136435758721147	0
b(14)	0.0198915009041591	-7.919863857576672	1.264539729294455	-5.435920495224707 -10.40380721992864	-0.1894530231775688
b(15)	0.216998191681736	0.3727759173332868	0.08565854161399818	0.5410355306469429 0.2045163040196307	-0.02307359811562306
b(16)	0.206148282097649	1.084924747331814	0.3133259016000104	1.700392791160323 0.469456703503305	0.1246447804650835
b(20)	0.0433996383363472	0.7503549235898909	0.2673014958967827	1.275416937141667 0.2252929100381147	0.1337455366481256
b(22)	-0.0687160940325497	1.276198897252235	0.2771619428621392	1.820629848941753 0.731767945562717	0.13819431878757

4.2.1. Dpt a l'ili, cec i recte de pollastre

Es considerarà el model final, obtingut del model resum dels anteriors, on es tenen les dades de tots els segments així com els tractaments fets. A part, es tindran en compte els resultats obtinguts en els estudis parcials per zones, quan han resultat significatives variables que no es definien en aquest model resum.

4.2.1.1. Efecte del temps, del temps de muntatge, de la temperatura i de l'edat

En el model final aquetes quatre variables han resultat ser significatives, a més dels quadrats del temps i de la temperatura. S'han considerat com a variables bàsiques del sistema, doncs donades qualsevols condicions experimentals aquests paràmetres sempre poden definir-se, i a més, contribueixen quantitativament al model final.

La variació de la Dpt al llarg del temps segueix una funció quadràtica d'equació $Y = -0,097t + 0,0005t^2$. Per tant, disminueix a mida que passa el temps.

Al variar el temps de muntatge, segons el model descrit, varia la Dpt que s'obté en un moment donat, de forma que per cada minut de més que s'allarga el temps de muntatge la Dpt disminueix 0,59 mV. Aquest efecte pot observar-se en la figura 22.

Segons la temperatura del medi s'obtenen resultats diferents. Així, s'observa que l'equació que relaciona Dpt i temperatura del medi també és de tipus quadràtica (hi ha un factor lineal i un factor quadràtic). La seva expressió és: $Y = -6,38T^{\circ} + 0,096T^{\circ 2}$. Al augmentar la temperatura del medi d'incubació la Dpt disminueix, com queda patent en la figura 23.

Finalment, dintre aquests quatre factors bàsics, es pot dir que l'edat té un efecte elevador de la Dpt. Per cada dia de més del pollastre el valor de la Dpt és 0,05 mV més elevat. S'han representat gràficament els valors de Dpt que s'obtindrien en un pollastre de 60 dies i en un de 120 (figura 24).

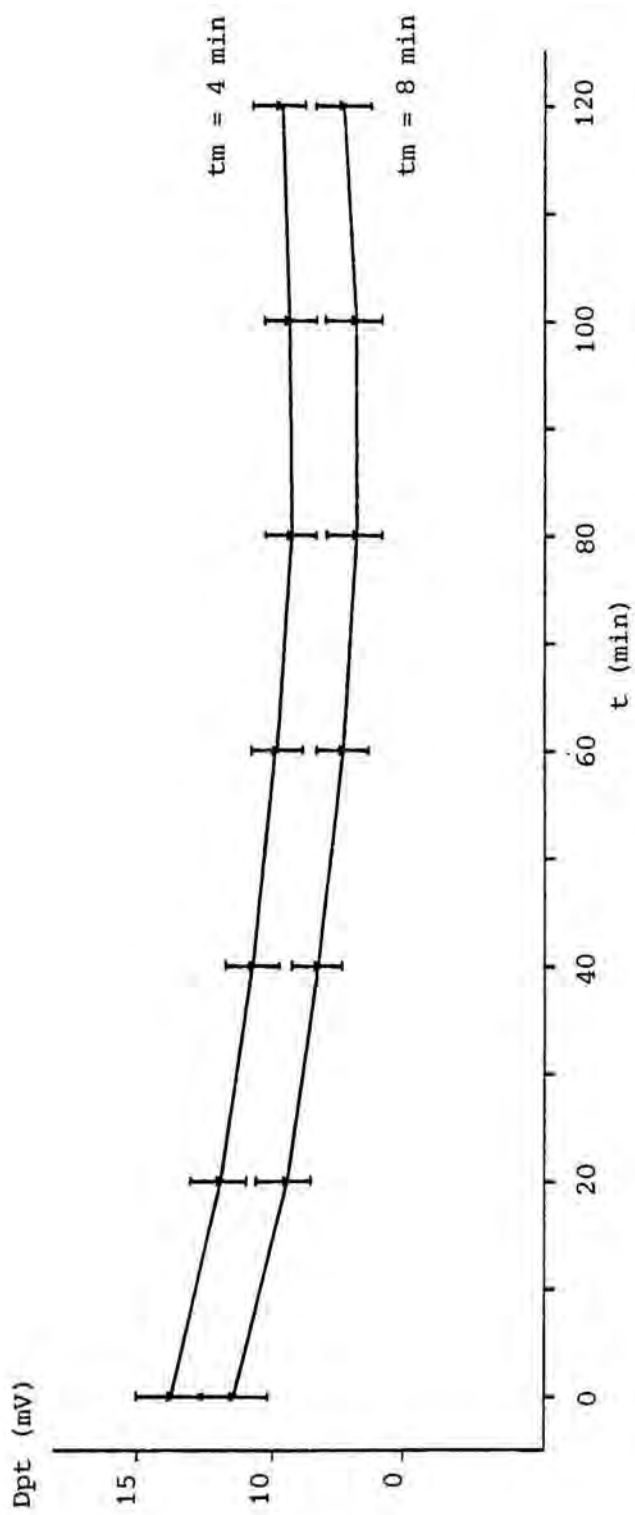


FIGURA 22: Efecte del temps de muntatge sobre la Dpt.
 Cec de pollastre, sencer, 31°C.
 La dispersió representa l'error estàndard.
 Dades obtingudes per simulació a partir del
 model lineal resum.

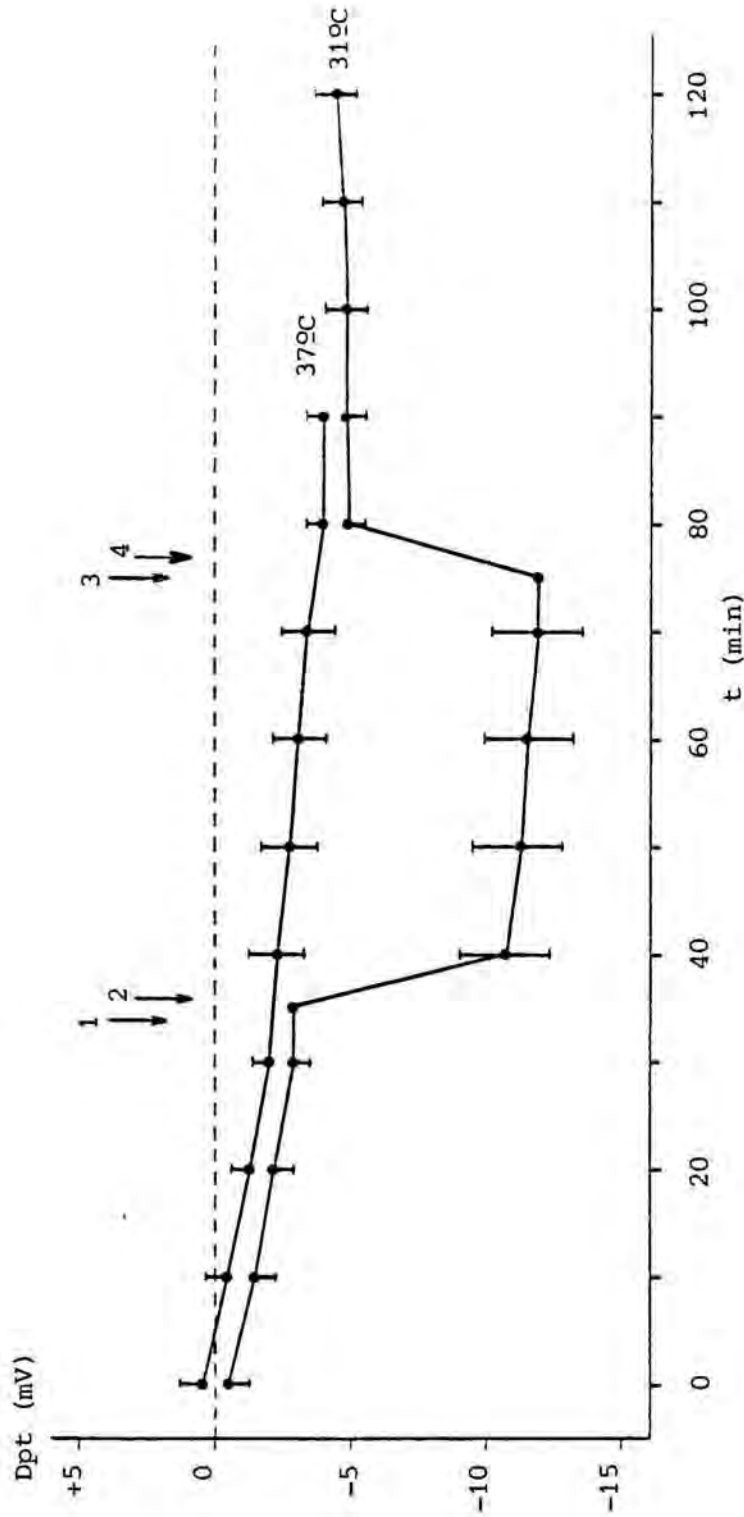


FIGURA 23: Efecte de la temperatura sobre la Dpt.
 Recte de pollastre, mucosa aïllada, dieta amb Na^+ .
 1: supressió del Na^+ del medi. 2: addició d'amiloride al costat mucosal.
 3: reincorporació del Na^+ al medi. 4: supressió de l'amiloride del medi.
 La dispersió representa l'error estàndard.
 Dades obtingudes per simulació a partir del model lineal resum.
 +: serosa positiva; -: serosa negativa.

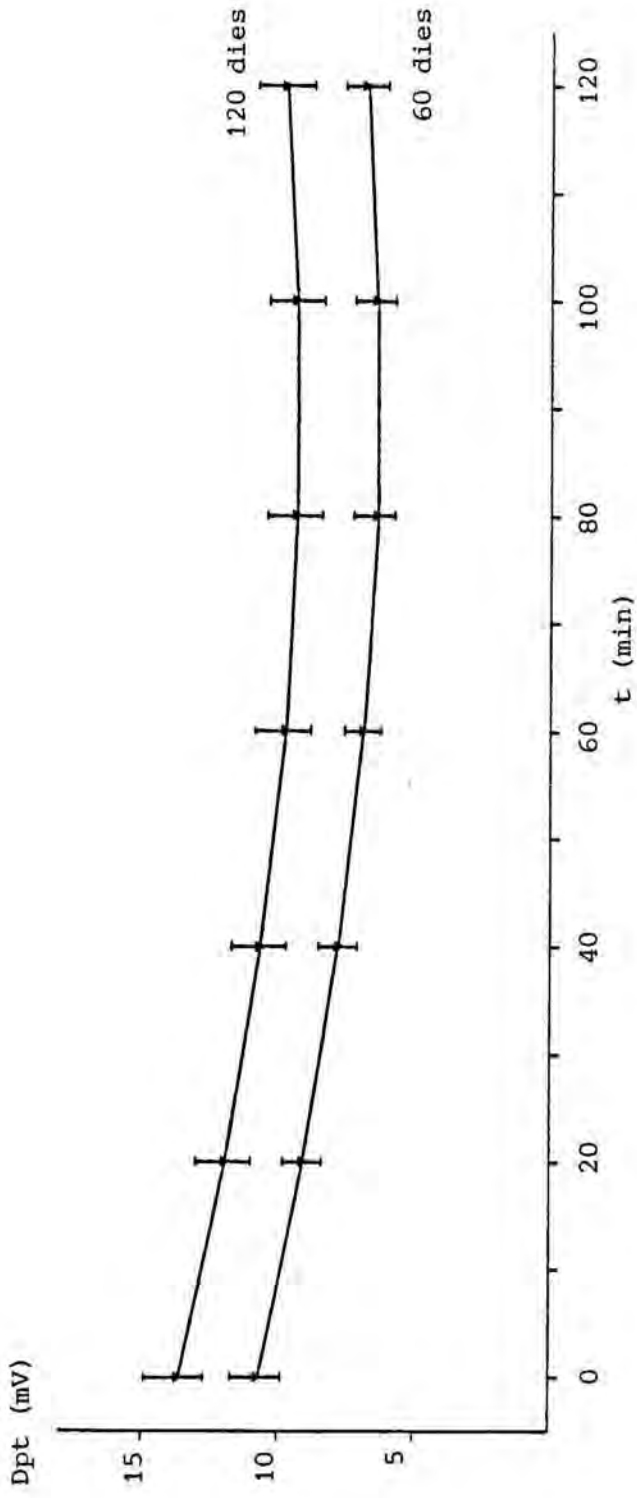


FIGURA 24: Efecte de l'edat sobre la Dpt.
 Cec de pollastre, sencer, 31°C.
 la dispersió representa l'error estàndard.
 Dades obtingudes per simulació a partir del
 model lineal resum.

Les figures 22, 23 i 24 s'han obtingut a partir d'experiments simulats amb l'ordinador a partir del model resum.

A partir d'aquests quatre factors s'ha dissenyat un nou model considerant com a variables els factors, el quadrat del seu valor i totes les possibles interaccions entre ells. D'aquesta manera s'ha pogut afinar més en la contribució de cada un d'aquests factors a la resposta que s'obté. Les causes de variació que s'obtenen són les següents: t , t^2 , tm^2 , T° , $T^{\circ 2}$, $edat$, $edat^2$, $t.T^{\circ}$, $tm.T^{\circ}$, $tm.edat$, $t.tm^2$, $t^2.tm$, $t^2.T^{\circ}$, $tm.edat^2$, $tm^2.T^{\circ}$, $T^{\circ}.edat$. Així per exemple, la variació al llarg del temps de la Dpt depèn del valor de t , de t^2 i de les interaccions $t.T^{\circ}$, $t.tm^2$, $t^2.tm$, $t^2.T^{\circ}$.

Amb l'ajut de l'ordinador s'han fet representacions gràfiques tridimensionals considerant en cada cas la Dpt i dos d'aquests factors.

1. Variació de la Dpt al llarg del temps i segons la temperatura a la que es fa l'experiment. L'equació que defineix aquesta funció és:

$$Y = 739,7 + 1,858t - 0,0256t^2 - 56,95T^{\circ} + 0,936T^{\circ 2} - 0,072tT^{\circ} + 0,00101t^2T^{\circ 2}$$

En la figura 25 es té la representació gràfica. A l'eix de les Z es té la Dpt. L'escala representada correspon a 20 mV. A l'eix de les X hi ha la temperatura que va de 37 a 31 °C (s'ha invertit aquest eix per una visió més clara de la figura). A l'eix de les Y es té el temps (de 0 a 60 min). Es pot observar que al augmentar la temperatura disminueix la Dpt. També es pot veure la interacció $t.T$, plausible per l'augment que s'observa de la corbatura de la gràfica.

2. Variació de la Dpt segons la temperatura a la que es fa l'experiment i segons l'edat del pollastre. L'equació que defineix aquesta funció és:

$$Y = 739,7 - 56,95T^{\circ} + 0,936T^{\circ 2} + 2,713.edat - 0,022.edat^2 + 0,000917T^{\circ 2}.edat$$

Aquesta funció està representada en la figura 26. Z és la Dpt, a l'escala es representen 20 mV. X és l'edat (de 60 a 120 dies), Y és la temperatura (de 31 a 37°C).

La variació de la temperatura no té el mateix efecte en una edat o en una altra. Així, quan el pollastre té 120 dies, al variar la temperatura del medi d'incubació la variació en la Dpt és més gran que si el pollastre és de 60 dies.

3. Variació de la Dpt segons la temperatura i segons el temps de muntatge. L'equació que defineix aquesta funció és:

$$Y = -12,069tm^2 - 56,95T^{\circ} + 0,963T^{\circ 2} + 4,857T^{\circ}tm - 0,1351T^{\circ 2}tm + 0,3777T^{\circ}tm^2$$

En la figura 27 es té la representació gràfica. L'eix de les Z és el de la Dpt, l'escala correspon a 20 mV. A l'eix de les X hi ha el temps de muntatge (de 8 a 4 min) que ha hagut de invertir-se per millorar la visió de la figura. A l'eix de les Y hi ha la temperatura (de 31 a 37°C).

Segons el temps de muntatge l'efecte de la temperatura varia, i al revés. Així pot observar-se que a baixes temperatures (31°C) l'efecte del temps de muntatge és menor que quan l'experiment es fa a 37°C.

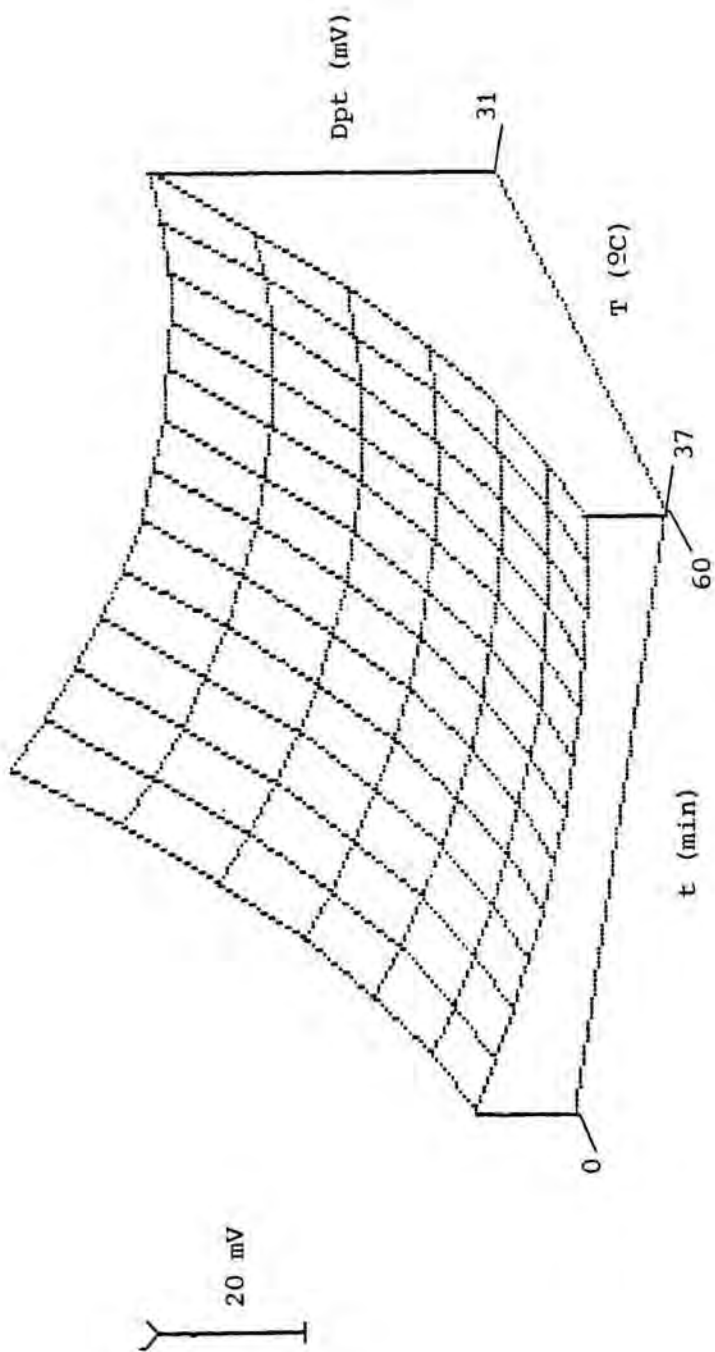


FIGURA 25: Variació de la Dpt en el temps a diferents temperatures. a l'ili, cec i recte de pollastre (mucosa aïllada i budell sencer). Orientació de la figura: elevació, 20⁰; gir, 30⁰.

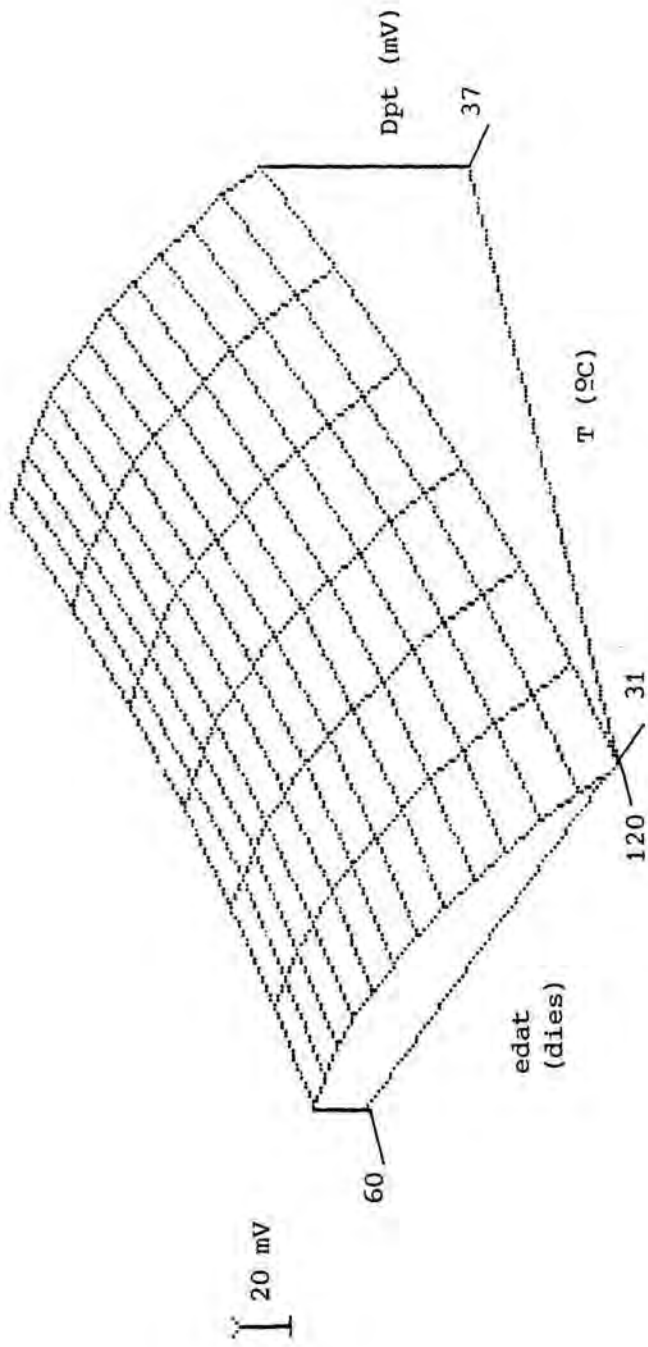


FIGURA 26: Variació de la Dpt segons l'edat a diferents temperatures a l'ili, cec i recte de pollastre (mucosa aïllada i budell sencer).
Orientació de la figura: elevació, 30° ; gir, -30° .

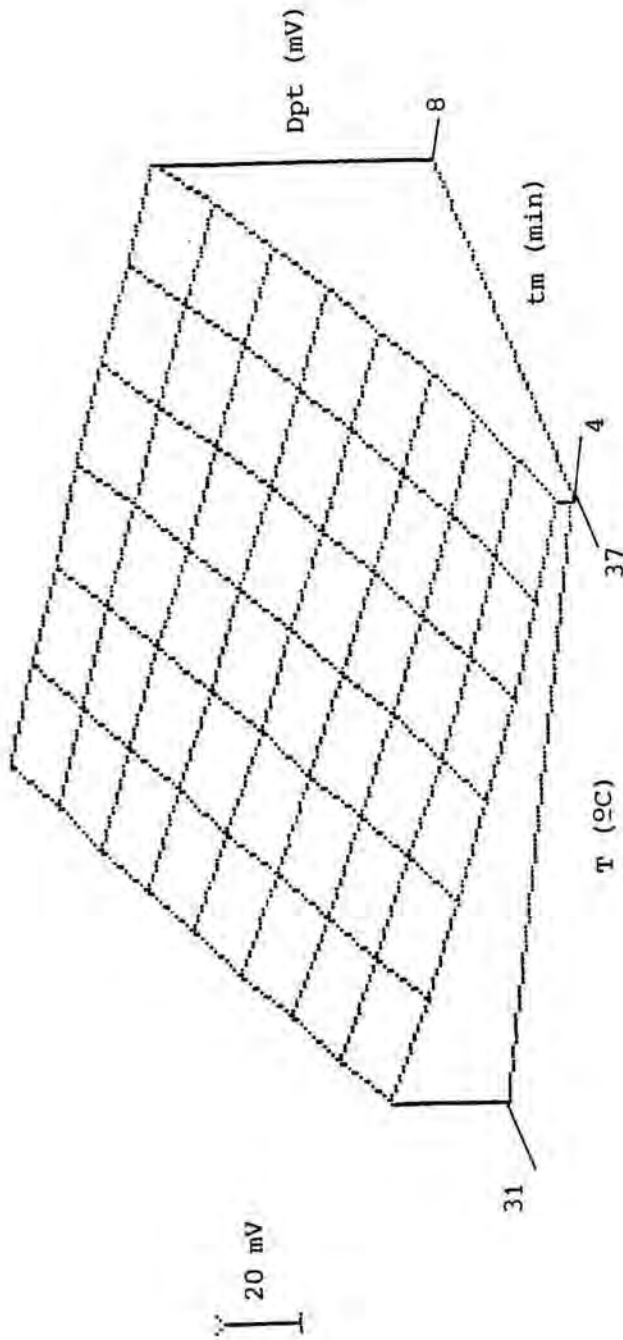


FIGURA 27: Variació de la Dpt segons el temps de muntatge a diferents temperatures a l'ili, cec i recte de pollastre (mucosa aïllada i budell sencer). Orientació de la figura: elevació, 15⁰; gir, 30⁰.

4.2.1.2. Diferències en la Dpt segons la zona del budell estudiada i segons el tipus de preparació

En el model final exposat en sisè lloc, es tenen les variables estadísticament significatives del model resum. La causa número 9 en el model final (variables X(14) i X(15)) indica que hi ha diferència en el valor de la Dpt segons la zona del budell considerada. Els valors estimats 'b' de l'equació final d'aquest model són: -6,375 per la variable (Re-I) i 4,132 per la variable (C-I). S'han estimat aquestes diferències formulant hipòtesis nul·les. L'expressió que s'utilitza és la següent:

1. Ho: Re = I -----> Re < I
2. Ho: C = I -----> C > I
3. Ho: Re = C -----> Re < I

Per tant, la Dpt al recte és menor que a l'ili, i en aquest segment menor que al cec (Re<I<C). La Dpt a l'ili, per terme mig, és 8,6 mV més elevada que en el recte. La Dpt al cec, per terme mig, és 1,8 mV més gran que a l'ili.

```

HIPOTESI: 1
0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0
SQ(Ho)= 10244.69941420054    GL(Ho)= 1/ 2692    V(Ho)= 10244.69941420054    F= 244.3679225355187    P= 0
*=-8.61845403579158        l.f.:-9.69951400706071    * -7.53739406452245

HIPOTESI: 2
0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 2 0 0 0 0 0 0 0 0 0
SQ(Ho)= 475.6484451328363    GL(Ho)= 1/ 2692    V(Ho)= 475.6484451328363    F= 11.34569377733483    P= 0,00076512
*=-1.888745373799709        l.f.:-0.789232293589077    * 2.988258454010341

HIPOTESI: 3
0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 -1 0 0 0 0 0 0 0 0 0
SQ(Ho)= 28889.45745427321    GL(Ho)= 1/ 2692    V(Ho)= 28889.45745427321    F= 689.1033514847063    P= 0
*=-10.5071994095913        l.f.:-11.29205057767427    * -9.72234824150833
    
```

En la figura 28 es té la representació gràfica d'aquestes diferències (representació obtinguda per simulació).

En quan al tipus de preparació (mucosa aïllada o budell sencer), no es pot generalitzar l'efecte d'aquest factor a tot el budell. La variable 'tipus de preparació' no és significativa en el model resum. Sí, en canvi, s'observa un efecte quan es considera la interacció entre el tipus de preparació i la zona del budell, doncs la causa 12 (X(14), X(15)) forma part del model final. Els valors estimats 'b' no serveixen de gaire en aquest cas donc quantifiquen la contribució d'una interacció. Per esbrinar l'efecte del tipus de preparació i de la zona del budell, s'han formulat les següents hipòtesis:

1. $H_0: Re(M=S)$; 2. $H_0: C(M=S)$; 3. $H_0: I(M=S)$
4. $H_0: M(Re=C)$; 5. $H_0: M(Re=I)$; 6. $H_0: M(C=I)$
7. $H_0: S(Re=C)$; 8. $H_0: S(Re=I)$; 9. $H_0: S(C=I)$

Els resultats que s'obtenen són:

- | | | |
|--------------|--------------|-------------|
| 1. $Re(M<S)$ | 2. $C(M<S)$ | 3. $I(M>S)$ |
| 4. $M(Re<C)$ | 5. $M(Re<I)$ | 6. $M(C<I)$ |
| 7. $S(Re<C)$ | 8. $S(Re<I)$ | 9. $S(C>I)$ |

Els valors del test de la F de Snedecor, els límits fiducials i la probabilitat amb la que s'ha rebutjat la hipòtesi es mostren tot seguit.

HIPOTESI: 1
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 0 0 0 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 310.0011515718942 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 310.0011515718942 F= 7.394490978255201 P= 0, 0 0 6 6 0 0 8 0
 #=-1.410007368742802 l.f.: -2.426747009201856 ~ -0.393267728283748

HIPOTESI: 2
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 0 0 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 1652.543678499259 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 1652.543678499259 F= 39.41830299621157 P= 0
 #=-3.056754060021446 l.f.: -4.011425766199699 ~ -2.102082353843193

HIPOTESI: 3
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 -2 -2 0 0 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 2644.116911389332 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 2644.116911389332 F= 63.07040650520302 P= 0
 #= 4.466761428764248 l.f.: 3.36389616639921 ~ 5.569626691129286

HIPOTESI: 4
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 -1 1 -1 0 0 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 20615.69554353256 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 20615.69554353256 F= 491.7484142692083 P= 0
 #=-9.68382606395198 l.f.: -10.54011042387028 ~ -8.82754170403368

HIPOTESI: 5
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 1 2 1 0 0 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 15676.80578613663 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 15676.80578613663 F= 373.9405430129897 P= 0
 #=-11.5568384345451 l.f.: -12.72871071125716 ~ -10.38496615783304

HIPOTESI: 6
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 2 1 2 0 0 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 313.2207568817963 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 313.2207568817963 F= 7.471288571737986 P= 0, 0 0 6 3 1 4 5 3
 #=-1.873012370593138 l.f.: -3.216660047990102 ~ -0.529364693196174

HIPOTESI: 7
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 -1 -1 1 0 0 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 11272.68912537971 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 11272.68912537971 F= 268.888672237607 P= 0
 #=-11.33057275523062 l.f.: -12.6854755106467 ~ -9.97566999981454

HIPOTESI: 8
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 1 -2 -1 0 0 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 1885.294830717211 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 1885.294830717211 F= 44.97014138947962 P= 0
 #=-5.680069637038055 l.f.: -7.34093355083659 ~ -4.01920572323952

HIPOTESI: 9
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 2 -1 -2 0 0 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 2314.815649823669 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 2314.815649823669 F= 55.21554791700635 P= 0
 #= 5.650503118192556 l.f.: 4.159429997449417 ~ 7.141576238935695

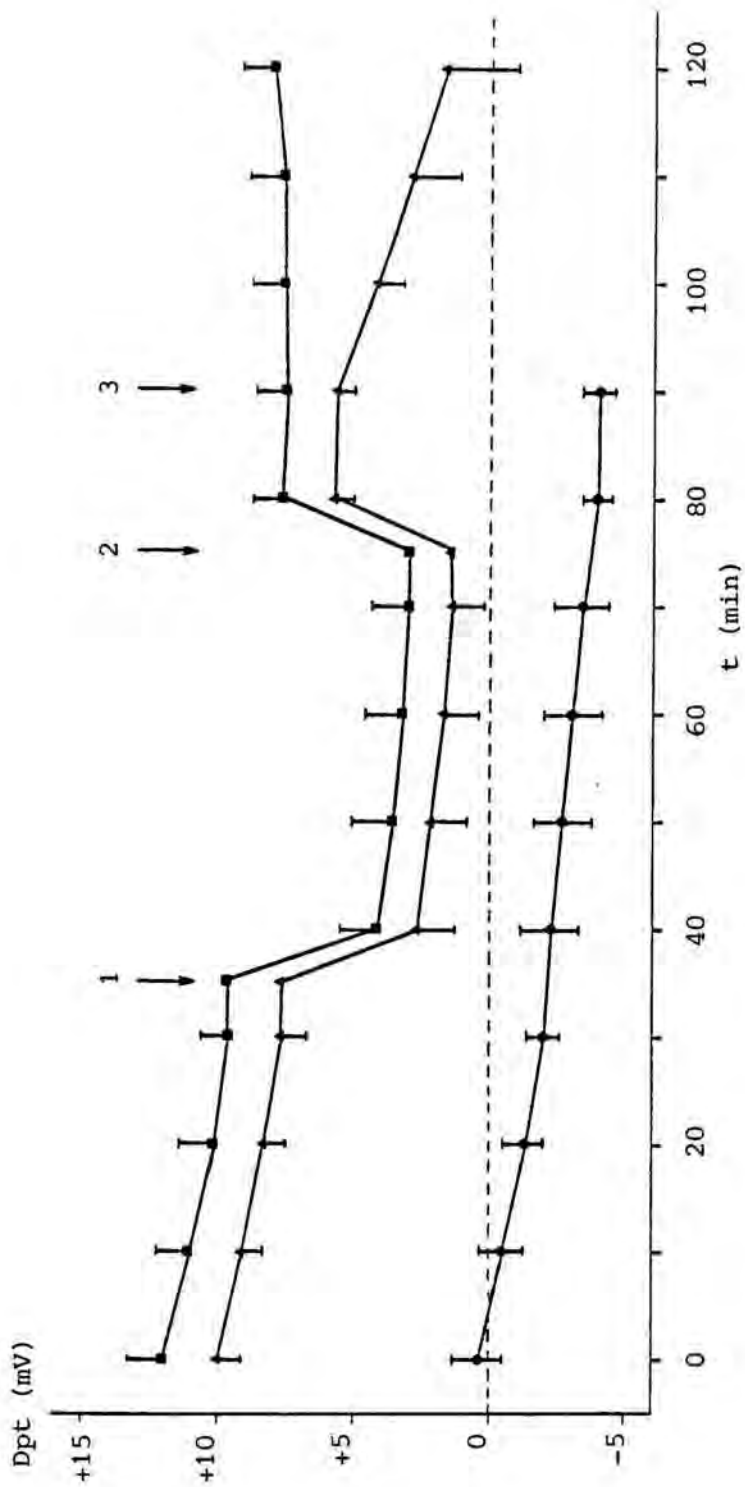


FIGURA 28: Dpt a l'ili (■), cec (▲) i recte (●) de pollastre Mucosa aïllada, 37°C.
 1: supressió del Na⁺ del medi. 2: reincorporació del Na⁺ al medi.
 3: addició de ouabaina al costat serosal del cec.
 La dispersió representa l'error estàndard.
 Dades obtingudes per simulació a partir del model resum.
 +: serosa positiva, -: serosa negativa.

Sense entrar en detall, pot observar-se que en el recte la Dpt és menor si s'ha aïllat la mucosa, així com en el cec. En canvi, en el cas de l'ili, els valors més grans de Dpt es tenen quan s'ha aïllat la mucosa.

Considerant les dades que es tenen amb mucosa aïllada, la relació de Dpt és $Re < C < I$ (0:9,6:11,5). Considerant el budell sencer es té $Re < I < C$ (0:5,7:11,3). En la figura 29 s'il.lustren aquests resultats (representació obtinguda per simulació).

4.2.1.3. Efecte de la dieta sobre la Dpt

S'han fet alguns experiments amb el recte de pollastres alimentats amb una dieta sense ió sodi per veure quin era l'efecte sobre els valors dels paràmetres elèctrics. Aquestes dades també s'han inclòs en els models que s'han anat fent, així com en el model resum.

Es veu clarament un efecte d'aquest factor en el model final. S'ha estimat la diferència de la Dpt obtinguda segons la dieta en un valor de -7,88 mV.

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 0 0 0 0 0 0 0 2 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
#=-7.883623469812418 l.f.:-8.886874554644348 * -6.880372384980488

En la figura 30 s'han representat dos experiments simulats on es pot comparar l'efecte de la dieta en el recte de pollastre.

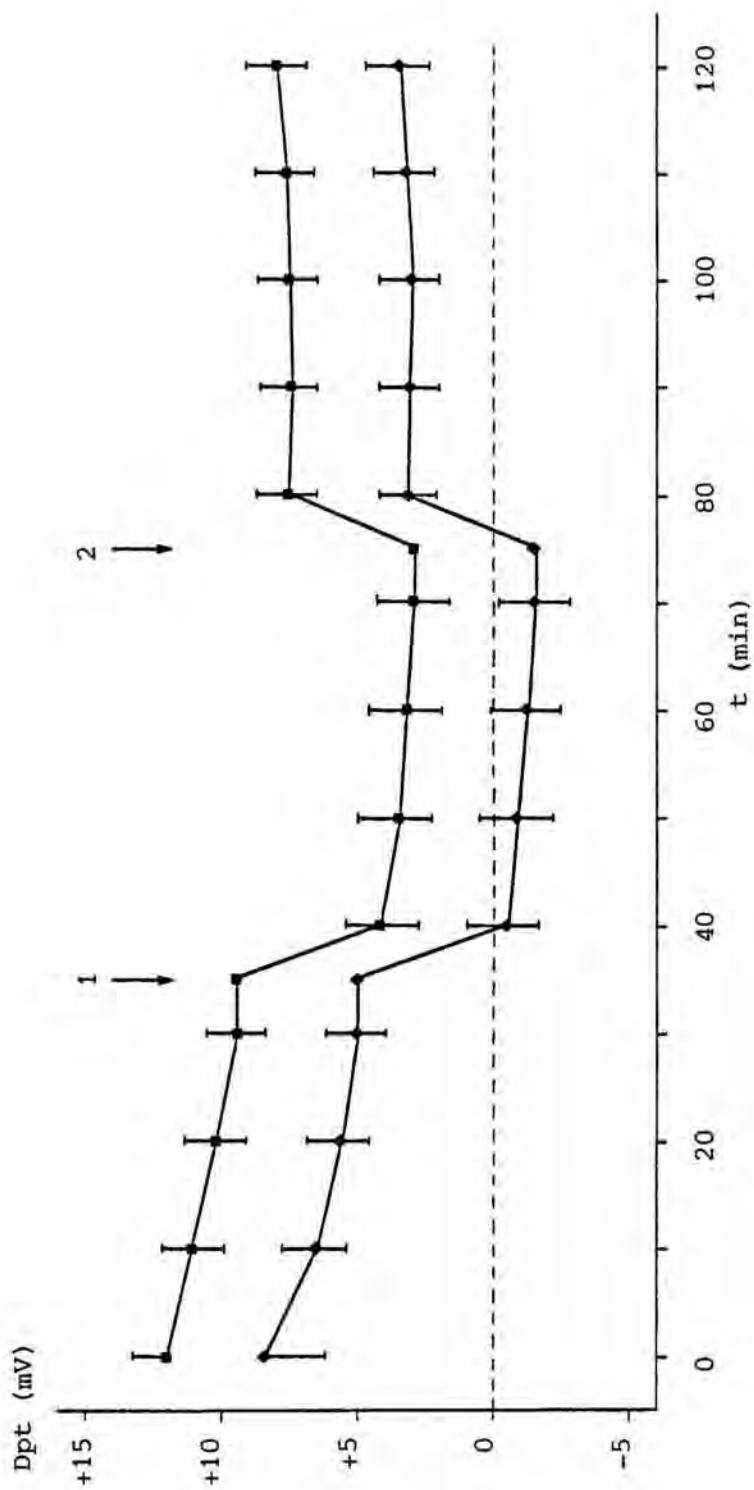


FIGURA 29: Efecte del tipus de preparació sobre la Dpt. Ili de pollastre, 37°C. Mucosa aïllada (■), budell sencer (◆). 1: supressió del Na⁺ del medi, 2: reincorporació del Na⁺ al medi. La dispersió representa l'error estàndard. Dades obtingudes per simulació a partir del model lineal resum. +: serosa positiva, -: serosa nega tiva.

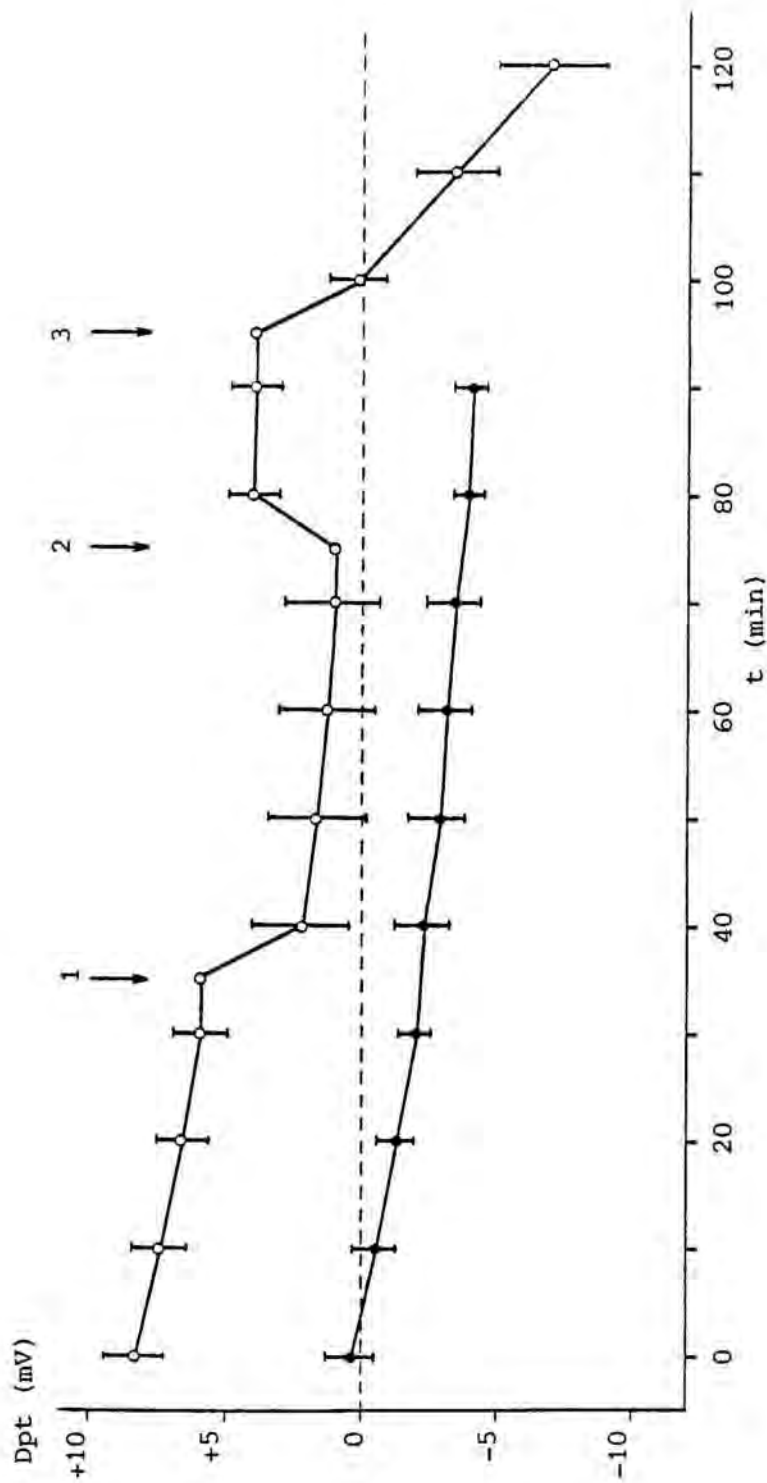


FIGURA 30: Efecte de la dieta sobre la Dpt al recte de pollastre. Mucosa aïllada, 37°C. Dieta amb Na⁺ (●), dieta amb poc Na⁺ (○).
 1: supressió del Na⁺ del medi. 2: reincorporació del Na⁺ al medi.
 3: addició de ouabaina al costat serosal.
 La dispersió representa l'error estàndard.
 Dades obtingudes per simulació a partir del model lineal resum.
 +: serosa positiva, -: serosa negativa.

4.2.1.4. Efecte de la supressió del ió sodi del medi d'incubació

En general s'ha vist un efecte d'aquest factor que es pot quantificar en 4,7 mV.

ESTIMACIO corresponent a la poblacio per X... = 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0
#=-4.713790149552278 l.f.:-5.844206056883843 * -3.583374242220713

Quan es treu aquest ió del medi, la Dpt disminueix 4,7 mV per terme mig. Aquesta Dpt es recupera al tornar a restablir la concentració normal d'aquest ió en la solució. Ara bé, les variables ONa medi.zona i ONa medi.dieta considerades en el model inicial (resum) han donat significatives. Per tant, hi ha variacions en l'efecte de l'eliminació del ió sodi del medi segons la zona considerada i segons la dieta que ha seguit el pollastre.

Per esbrinar aquestes diferències s'han formulat varies hipòtesis nul.les obtinguent-se els següents resultats:

1. Re (Na medi > ONa medi)
2. C (Na medi > ONa medi)
3. I (Na medi > ONA medi)
4. ONa medi (dieta Na < dieta ONa)
5. Na medi (dieta Na < dieta ONa)
6. dieta Na (Na medi > ONa medi)
7. dieta ONa (Na medi > ONa medi)

La quantificació d'aquestes diferències es tenen seguidament (pel mateix ordre).

HIPOTESI: 1
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 -1 -1 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 232.5212750681334 BL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 232.5212750681334 F= 5.546355108764677 P= 0.018590613607575
 #= 1.375862648959075 l.f.: 0.230313412199901 ~ 2.521411885718249

HIPOTESI: 2
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 -1 0 -1 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 2440.739264493698 BL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 2440.739264493698 F= 58.21921750951967 P= 0
 #= 6.205053620526086 l.f.: 4.610442192366738 ~ 7.799665048685434

HIPOTESI: 3
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 -1 1 1 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 2083.695929646387 BL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 2083.695929646387 F= 49.70262424805529 P= 0
 #= 6.560454179171673 l.f.: 4.735773967566404 ~ 8.385134390782942

HIPOTESI: 4
 0 0 0 0 0 0 0 0 2 0 0 0 0 0 0 0 0 2 0 0
 SQ(Ho)= 850.5143273712477 BL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 850.5143273712477 F= 20.28741018778098 P= 0,00000694
 #=-4.426670326274628 l.f.: -6.353779814702492 ~ -2.499560837846764

HIPOTESI: 5
 0 0 0 0 0 0 0 0 2 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
 SQ(Ho)= 9953.424490973184 BL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 9953.424490973184 F= 227.4201103061917 P= 0
 #=-7.883623469812418 l.f.: -8.886874554644348 ~ -6.880372384980488

HIPOTESI: 6
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 -1 0 0 0 -1 0 0
 SQ(Ho)= 2291.601342608191 BL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 2291.601342608191 F= 54.66181453762731 P= 0
 #= 2.98531357783383 l.f.: 2.193559243401943 ~ 3.777067912164823

HIPOTESI: 7
 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 -1 0 0 0 0 1 0 0
 SQ(Ho)= 1646.318845802433 BL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 1646.318845802433 F= 39.26982138901615 P= 0
 #= 6.442266721321173 l.f.: 4.426446701945213 ~ 8.458086740697133

En els tres segments en les mateixes condicions experimentals la supressió del ió sodi del medi fa disminuir la Dpt, encara que en una magnitud molt inferior en el cas del recte (a l'ili i al cec hi ha diferències de 6,6 i 6,2 mV, respectivament, en canvi en el recte només són de 1,4 mV). En la figura 28 es pot observar aquest efecte.

L'efecte d'una dieta sense ió sodi és la d'augmentar la diferència de potencial. Aquest efecte, qualitativament és el mateix, tant si el medi conté ió sodi com si no en conté. Quantitativament s'observen diferències: si en el medi no hi

ha ió sodi, la diferència en el valor de la Dpt segons la dieta és de 4,4 mV, en canvi, si el medi conté ió sodi, aquesta diferència és de 7,9 mV.

El cas invers també s'ha contemplat al formular les hipòtesis i s'ha vist que quan la dieta conté ió sodi l'efecte de suprimir aquest ió del medi d'incubació és la disminució de 3 mV de la Dpt; en canvi, si la dieta no conté ió sodi aquest efecte és de 6,4 mV. En la figura 30 es té la representació gràfica d'aquestes relacions.

4.2.1.5. Efecte del tractament amb ouabaïna o amb amiloride

El cardiotònic 'ouabaïna' té la propietat d'inhibir la bomba de Na/K de la membrana basolateral de l'enteròcit. Per aquesta raó s'esperava un efecte de disminució de la Dpt al afegir aquesta substància al costat serosal. Efectivament s'ha observat aquest efecte, però no es pot generalitzar per tot el budell doncs, depenent de la zona, aquest efecte varia.

En el model resum, la interacció de la zona del budell amb el temps que porta actuant la ouabaïna ha donat significativa. Per tant, l'efecte d'aquesta substància és la d'accelerar la disminució de la Dpt de forma diferent en l'ili, cec i recte. S'han formulat les següents hipòtesis amb els següents resultats:

1. Ho: touab (Re = C) -----> touab (Re < C)
2. Ho: touab (Re = I) -----> touab (Re < I)
3. Ho: touab (C = I) -----> touab (C < I)

Els valors d'aquestes diferències i la probabilitat amb la que s'ha rebutjat la hipòtesi, es tenen a continuació.

HIPOTESI: 1
 0 0 0 0 0 0 0 0 1 -1 0 0 0 0 0 0 0 0 1 -1
 SQ(Ho)= 30516.090871595 BL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 30516.090871595 F= 727.9036142202623 P= 0
 #=-10.73882237527722 l.f.i=-11.51930319834848 ~ -9.95834155220596

HIPOTESI: 2
 0 0 0 0 0 0 0 0 2 1 0 0 0 0 0 0 0 0 2 1
 SQ(Ho)= 12337.03855254245 BL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 12337.03855254245 F= 294.2767141753826 P= 0
 #=-9.523900521006782 l.f.i=-10.61252831169542 ~ -8.43527273031814

HIPOTESI: 3

0 0 0 0 0 0 0 0 1 2 0 0 0 0 0 0 0 1 2
 SQ(Ho)= 197.1997184991537 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 197.1997184991537 F= 4.70382620181422 P= 0, 03024995
 * = 1.214921854270428 l.f.: 0.116509961838722 * 2.313333746702134

En el recte, la Dpt disminueix més depressa amb el temps que en el cec, i en el cec més depressa que a l'ili.

El diurètic amiloride, que bloqueja l'entrada de ió sodi per la membrana mucosal, fa disminuir la Dpt 7,2 mV per terme mig. Aquest efecte no està relacionat amb el temps i la Dpt es recupera al eliminar aquesta substància del medi d'incubació.

HIPOTESI:

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 0
 SQ(Ho)= 3814.880965825603 GL(Ho)= 1/ 2692 V(Ho)= 3814.880965825603 F= 90.9967680503044 P= 0
 * = -7.181219554833514 l.f.: -8.657360192800419 * -5.705078916866609

En la figura 31 poden observar-se els efectes de la ouabaïna i de l'amiloride (representació obtinguda per simulació).

4.2.1.6. Efecte del tritó, de la leucina i de l'àcid β-hidroxibutíric

El tritó és un detergent que aplicat al costat mucosal del teixit destrueix la mucosa. L'efecte observat és de disminució de la Dpt fins la seva anul.lació. Aquest efecte és irreversible.

L'addició de l'aminoàcid leucina al medi d'incubació no ha donat cap resposta en quan al valor de la Dpt . El mateix s'ha observat al afegir el substrat 'àcid β-hidroxibutíric'. En ambdós casos, el model lineal final ha rebutjat les variables que incluent aquests tractaments.

4.2.1.7. Model lineal per l'ili

En aquest segment de budell s'ha observat una interacció que no té efecte en les altres zones, i que per

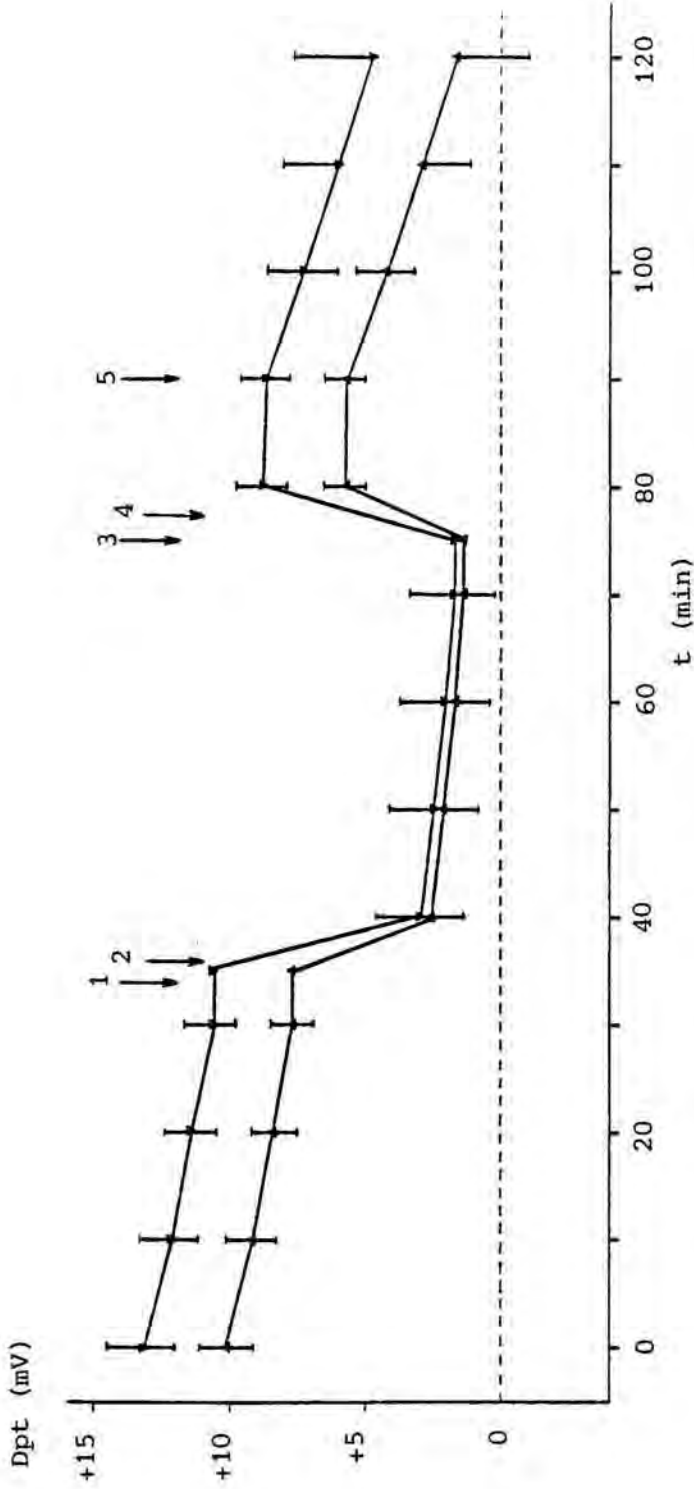


FIGURA 31: Efecte de l'addició de ouabaina i amiloride sobre la Dpt. Cec de pollastre, 37°C. Mucosa aïllada (▲), budell sencer (▼).
 1: addició d'amiloride en el costat mucosal de la mucosa aïllada.
 2: supressió del Na^+ del medi del budell sencer. 3: supressió de l'amiloride. 4: reincorporació del Na^+ al medi. 5: addició de ouabaina al costat serosal.
 La dispersió representa l'error estàndard.
 Dades obtingudes per simulació a partir del model lineal resum.
 +: serosa positiva. -: serosa negativa.

aquesta raó no s'ha considerat en el model resum. L'efecte de la supressió del ió sodi del medi d'incubació té un efecte diferent segons si es tracta de mucosa aïllada o de budell sencer. La Dpt al treure el ió sodi és 2,7 mV més baixa quan l'experiment es fa amb el budell sencer que no quan es fa amb mucosa aïllada.

4.2.1.8. Model lineal pel cec

En el model lineal del cec, les variables significatives que no queden plausibles en el model resum són les següents:

- Presència d'àcid β -hidròxibutíric en el medi d'incubació. Aquest substrat fa augmentar la Dpt.

- Interacció ONa medi.tipus preparació. Depenent de si es treballa amb mucosa aïllada o amb budell sencer, l'efecte de la supressió del ió sodi del medi varia de forma que en el primer cas la devallada de la Dpt és 2 mV més gran que en el segon cas.

- Interacció zona cec.tipus. La resposta del cec medial i distal varia segons si la preparació és budell sencer o mucosa aïllada. El valor estimat 'b' no dóna suficient informació com per poder quantificar aquestes diferències.

4.2.1.9. Model lineal pel recte

En el cas del recte, hi ha una sèrie de causes de variació que no s'han considerat en el model resum per estar referides únicament a aquesta zona del budell. Aquestes causes són:

- Zona del recte. La Dpt varia al llarg del recte. En la figura 37 es poden observar aquestes diferències en un experiment que s'ha agafat com a mostra. En el cas d'una

dieta amb ió sodi, la Dpt es va fent més negativa al evolucionar de la part proximal a la distal. Hi ha també una interacció entre la zona del recte i el tipus de preparació.

- Efecte de l'addició de 2,4,6-triaminopirimidina (TAP) a un dels dos costats de l'epiteli. Afegit al costat mucosal o al serosal, s'observa un augment de la Dpt. Això es pot deduir dels valors de les 'b' del model lineal corresponent. En la figura 32 es té la representació gràfica d'un experiment que s'ha considerat prou significatiu on es veu l'efecte de l'addició d'aquesta substància a ambdós costats de l'epiteli.

4.2.2. Icc a l'ili, cec i recte de pollastre

S'han pres mesures de la Icc a les tres zones esmentades del budell de pollastre. Les anàlisis estadístiques fetes corresponen a les que s'han fet en el cas de la Dpt, excepte en el model resum degut a que el valor de la Icc en els models parcials és funció d'una sèrie de factors, diferents en alguns casos als factors significatius dels models per la Dpt. El model que s'ha dissenyat finalment inclou només les variables significatives de la resta dels models, llevat d'algunes que es refereixen a un determinat segment de l'intestí i que es consideraran a part.

4.2.2.1. Efecte del temps i de la dieta

El model resum no relaciona directament el factor temps amb la resposta. Sí en canvi quan es considera alhora la dieta. Per tant, a mida que passa el temps la Icc varia però de forma diferent si la dieta conté ió sodi o si la dieta en conté molt poc. La dieta, per ella mateixa, també afecta la Icc.

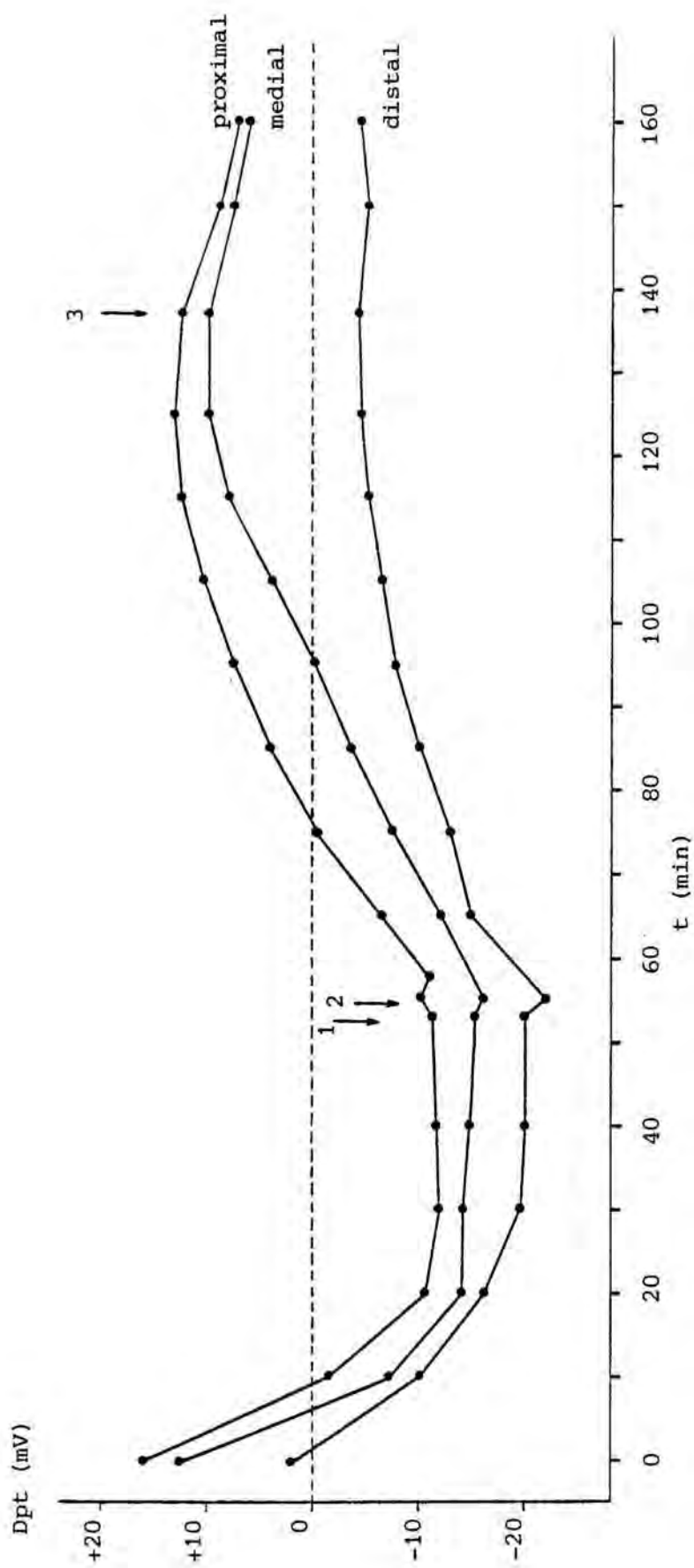


FIGURA 32: Efecte de l'addició de TAP sobre la Dpt, Recte de pollastre, mucosa aïllada, 37°C.
 1: addició de TAP al costat mucosal de les cambres proximal i medial.
 2: addició de TAP al costat serosal de la cambra distal.
 3: addició d'amiloride al costat mucosal de les cambres proximal i distal.
 Dades corresponents a un experiment.
 +: serosa positiva, -: serosa negativa.

A partir del model final obtingut es pot dir que la Icc és molt menor quan la dieta conté ió sodi que quan no en conté. També pot deduir-se la variació en la velocitat de disminució de la Icc depenent de la dieta: quan la dieta no conté ió sodi la Icc disminueix més depressa que quan en conté (el pendent és més negatiu).

S'ha estimat la diferència en la Icc depenent de la dieta en $90,7 \text{ uA/cm}^2$.

HIPOTESI:
0 0 0 2 0 0 0 0 0 0 0 0 0
SB (Ho) = 476900,3307302676 BL (Ho) = 1/ 2358 V (Ho) = 476900,3307302676 F = 221,594153444757 P = 0
* = -90,73599231134 I. F. = -102,688819235791 * = -78,78316538688901

En la figura 33 es té la representació d'uns experiments simulats on pot veure's l'efecte de la dieta sobre la Icc.

4.2.2.2. Efecte de la temperatura i de l'edat.

Al augmentar 1° la temperatura del medi d'incubació la Icc disminueix per terme mig $11,7 \text{ uA/cm}^2$. Aquest valor és el coeficient 'b' del model final, és la contribució de la temperatura a la resposta que s'obté. En la figura 34 pot observar-se aquest efecte (representació d'una simulació feta amb l'ordinador).

La Icc també està afectada per l'edat del pollastre. Cada dia que passa el valor de la Icc en el budell d'aquesta espècie augmenta $0,9 \text{ uA/cm}^2$, com pot veure's en el model final.

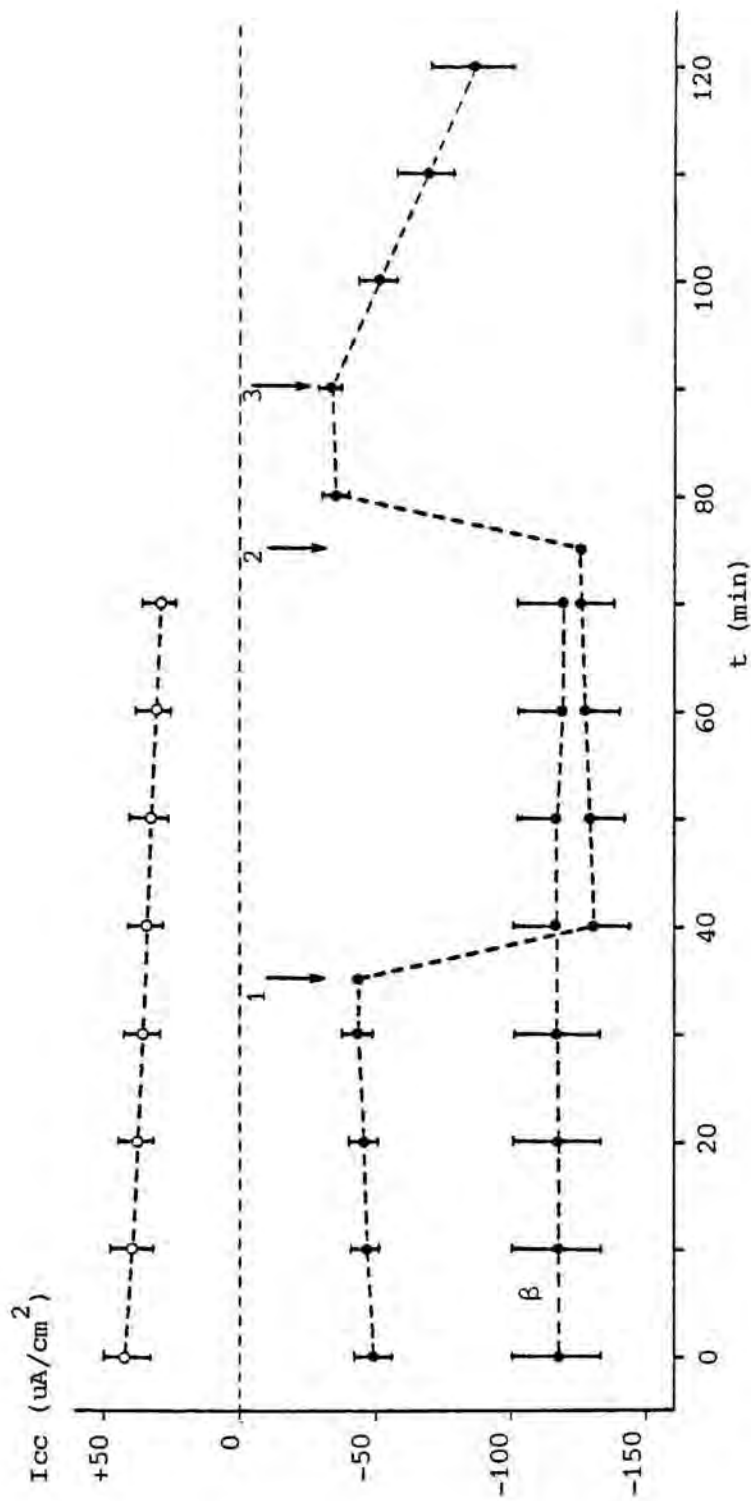


FIGURA 33: Efecte de la dieta, de la presència d'àcid β -hidroxibutíric, de l'addició de ouabaina al costat serosal i de l'addició d'amiloride al costat mucosal sobre la Icc.
 Recte de pollastre, mucosa aïllada, 37°C. Dieta amb Na^+ (●), dieta amb poc Na^+ (O). β : amb àcid β -hidroxibutíric.
 1: addició d'amiloride al costat mucosal. 2: supressió de l'amiloride del medi. 3: addició de ouabaina al costat serosal.
 La dispersió representa l'error estàndard.
 Dades obtingudes per simulació a partir del model lineal resum (Icc).
 +: serosa positiva, -: serosa negativa.

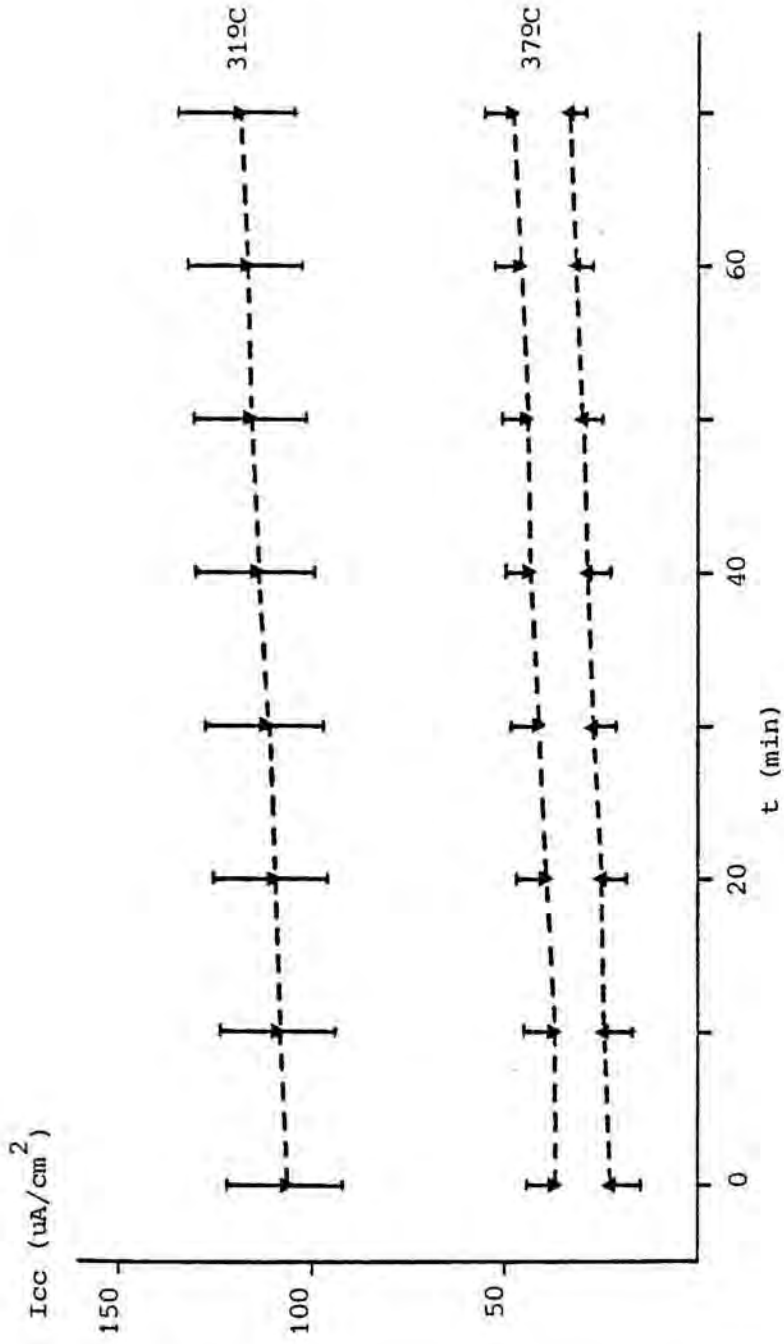


FIGURA 34: Efecte de la temperatura i del tipus de preparació sobre la I_{cc} . Cec de pollastre. Mucosa aïllada (▲), budell sencer (▼). La dispersió representa l'error estàndard. Dades obtingudes per simulació a partir del model lineal resum (I_{cc}).

4.2.2.3. Efecte de la zona del budell i del tipus de preparació

Ambdós factors actuen independentment sobre el valor que pren la Icc. S'han estimat les diferències dels casos possibles, i s'ha vist que

- 1. Re < I
- 2. C > I
- 3. Re < C
- 4. M < S

HIPOTESI: 1			
0 0 0 0 0 2 1 0 0 0 0 0 0			
SD(Ho)= 547249.1492708208	GL(Ho)= 1/ 2358	V(Ho)= 547249.1492708208	F= 254.282088198361
#= -57.1728166751613	I.f.= -64.20357048420622	↳ -50.14206286611638	P= -0.000000000000003
HIPOTESI: 2			
0 0 0 0 0 1 2 0 0 0 0 0 0			
SD(Ho)= 34351.87427754064	GL(Ho)= 1/ 2358	V(Ho)= 34351.87427754064	F= 15.96177232274561
#= 13.81883010372615	I.f.= 7.03615665852936	↳ 20.60150354892294	P= 0.000066615917047
HIPOTESI: 3			
0 0 0 0 0 1 -1 0 0 0 0 0 0			
SD(Ho)= 1456384.04965591	GL(Ho)= 1/ 2358	V(Ho)= 1456384.04965591	F= 676.71623029626
#= -70.99164677888745	I.f.= -76.34312969418604	↳ -65.64016386358686	P= -0.000000000000001
HIPOTESI: 4			
0 0 0 0 0 0 0 0 0 2 0 0 0			
SD(Ho)= 48780.43573535066	GL(Ho)= 1/ 2358	V(Ho)= 48780.43573535066	F= 22.6660764627058
#= -14.82628984704199	I.f.= -20.93310111309406	↳ -8.71947858098992	P= 0.000002044194335

Així es veu que la Icc és menor al recte que a l'ili, i menor a l'ili que al cec. La relació numèrica és la següent: Re<I<C (0:57:71).

Al comparar la mucosa aïllada i el budell sencer s'ha vist que els valors que s'obtenen són menors en la mucosa aïllada. La diferència és de 14,8 uA/cm².

En la figura 35 es veu l'efecte de la zona i en la 34 l'efecte del tipus de preparació. Ambdues figures són simulacions d'experiments.

4.2.2.4. Presència d'àcid β-hidròxibutíric en el medi d'incubació

Aquesta substància actua fent disminuir el valor de la Icc per una banda i fent baixar la velocitat de disminució d'aquesta Icc, per una altra banda. Aquest efecte és clarament visible en la gràfica 33, on es considera el cas del recte.

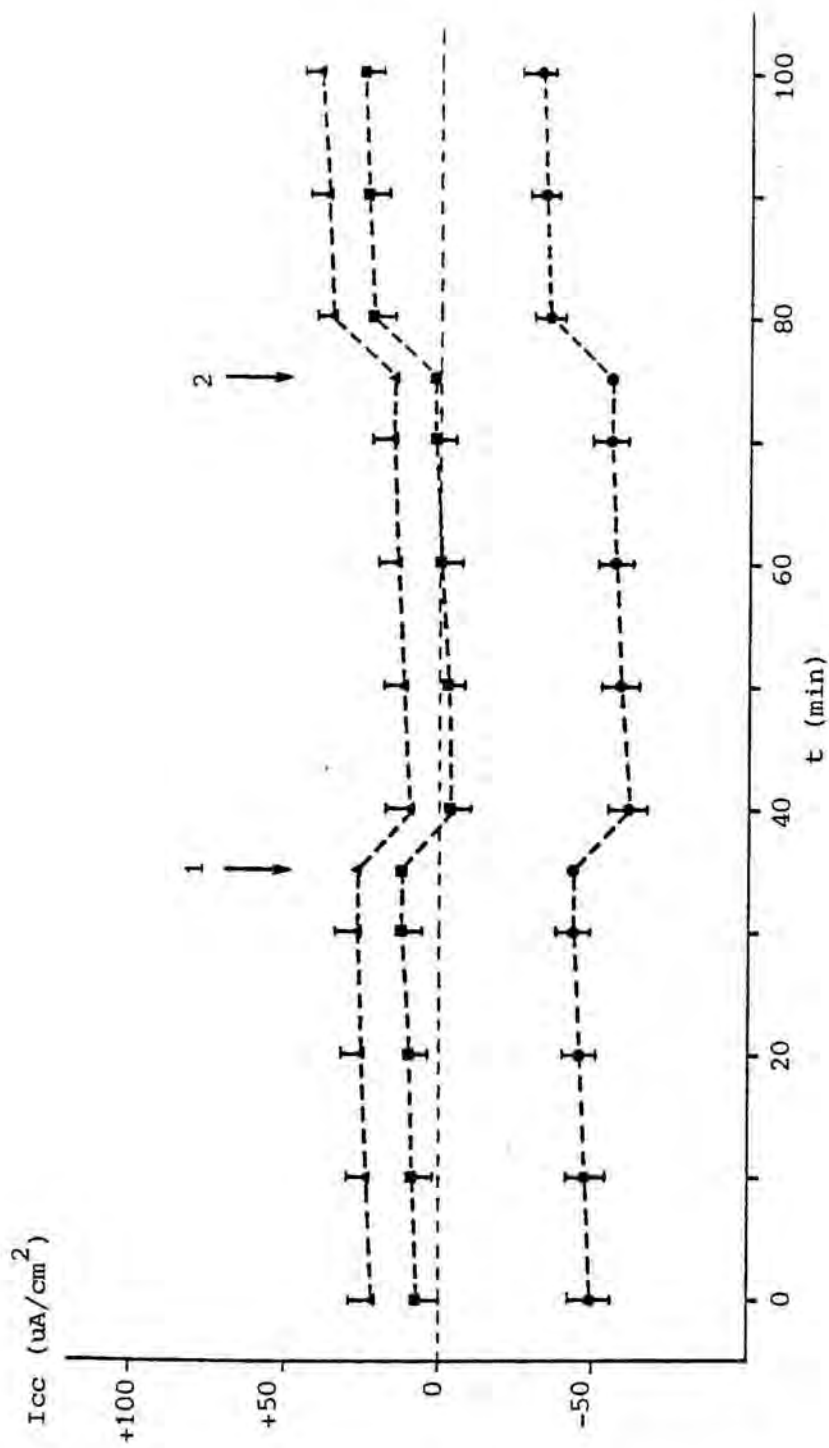


FIGURA 35: Icc a l'ili (■), cec (▲) i recte (●) de pollastre. Mucosa aïllada, 37°C.
 1: supressió del Na⁺ del medi. 2: reincorporació del Na⁺ del medi. La dispersió representa l'error estàndard. Dades obtingudes per simulació a partir del model lineal resum (Icc). +: serosa positiva, -: serosa negativa.

4.2.2.5. Efecte de l'absència de ió sodi en el medi d'incubació

És un efecte similar a l'observat en el cas de la Dpt. El fet de treure aquest ió del medi provoca la disminució de la Icc $18,5 \text{ uA/cm}^2$ per terme mig (figura 35). Com en aquell cas, al tornar a restablir la concentració inicial de ió sodi es recupera la resposta del teixit observant-se valors de Icc semblants als mesurats abans de treure aquest ió.

4.2.2.6. Efecte de la ouabaïna i de l'amiloride

La ouabaïna actua fent disminuir la Icc $1,9 \text{ uA/cm}^2$ cada minut que passa. L'amiloride té un efecte sumatori que no depèn del temps i val -88 uA/cm^2 , és a dir, el fet d'afegir aquesta substància al costat mucosal implica una disminució brusca de la Icc que es recupera al eliminar aquest component del medi (figura 33).

4.2.2.7. Particularitats de les diferents zones en quan a comportament de la Icc

Tant en el cec com en el recte hi ha variació en la Icc segons la zona que es consideri. El cec distal presenta un valor de Icc per terme mig $7,7 \text{ uA/cm}^2$ més elevat que el medial. En el cas del recte, el model final no dóna prou informació com per poder conèixer les diferències entre les zones.

En el recte, l'addició de TAP tant al costat mucosal com al serosal té efecte sobre el valor de la Icc. Si es posa al costat serosal hi ha un augment de $55,5 \text{ uA/cm}^2$, i si es posa al costat mucosal aquest augment és de $125,7 \text{ uA/cm}^2$.

4.2.3. R a l'ili, cec i recte de pollastre

Els valors de la resistència que es tenens'han obtingut per càlcul. Hi ha una gran variabilitat en els valors que s'han obtingut i en molts casos el mètode dels models lineals no s'ha pogut aplicar. En les figures 36, 37 i 38 es representen tres experiments fets en les tres zones del budell estudiades on es pot veure una mostra de l'evolució de les resistències al llarg del temps. En general es pot dir que és un paràmetre que gairebé no varia al llarg del temps.

En el cas del cec, s'ha fet una anàlisi pel mètode dels models lineals del que es pot deduir que la R és un paràmetre que no varia al llarg del temps però que sí ve influït pel tractament amb amiloride i per l'eliminació del ió sodi del medi d'incubació. L'efecte de l'amiloride és de disminució de la resistència i també està relacionat amb el temps, de forma que mentres hi ha amiloride en el medi la variació de la resistència és menor que quan no n'hi ha. El fet de treure el ió sodi del medi fa augmentar el valor de la resistència, i aquest efecte és diferent en la zona distal i en la medial, i també varia segons si s'ha aïllat la mucosa o si s'ha utilitzat el budell sencer.

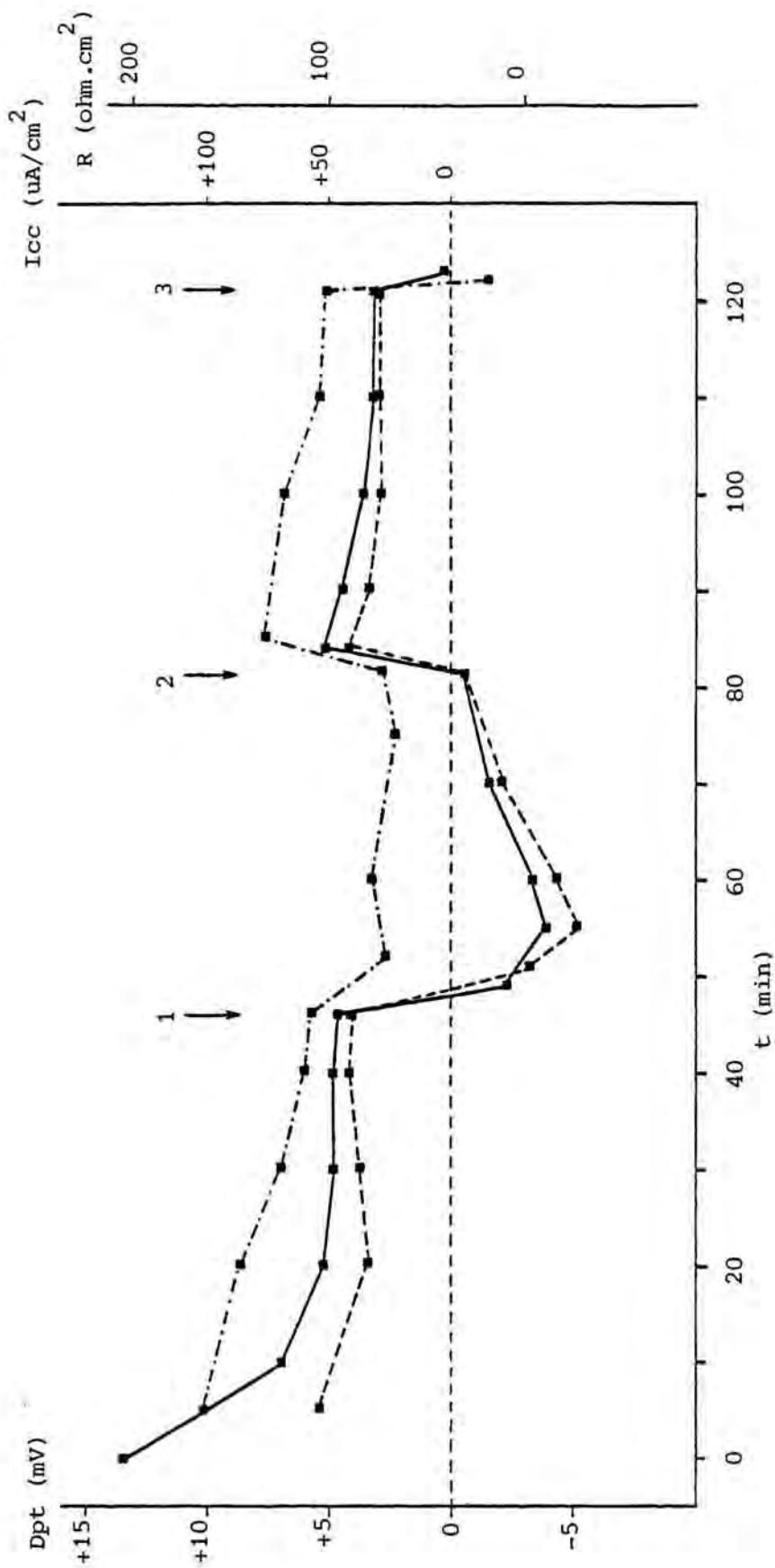


FIGURA 36: Dpt (—), Icc (---) i R (-.-) a l'ili sencer de pollastre. 37°C. 1: supressió del Na⁺ del medi, 2: reincorporació del Na⁺ al medi. 3: addició de trití al costat mucosal. Dades corresponents a un sol experiment. +: serosa positiva, -: serosa negativa.

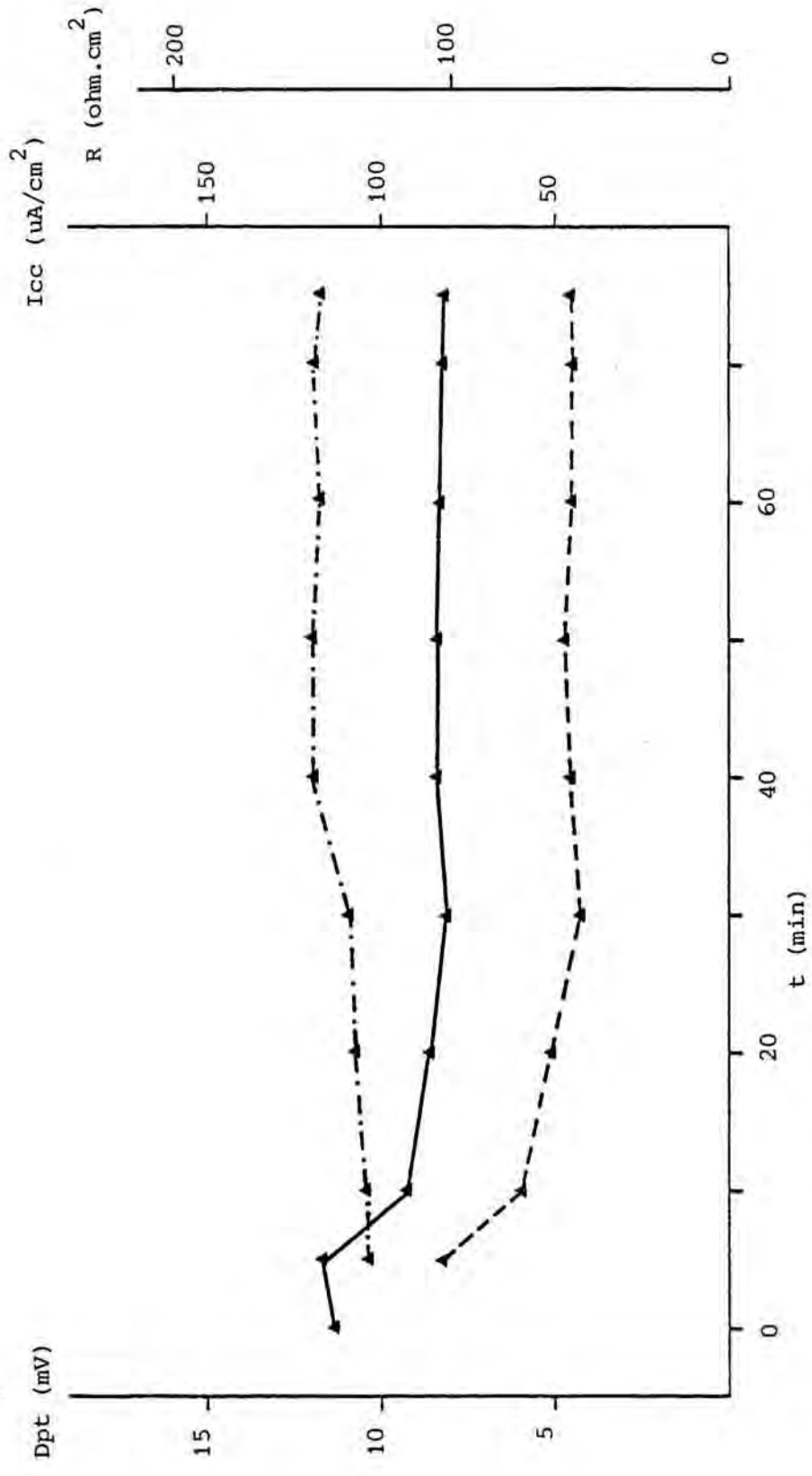


FIGURA 37: Dpt (—), Icc (-.-.) i R (---) al cec sencer de pollastre 31°C. Ringer amb glucosa i amb àcid β -hidroxibutíric. Dades corresponents a un sol experiment.

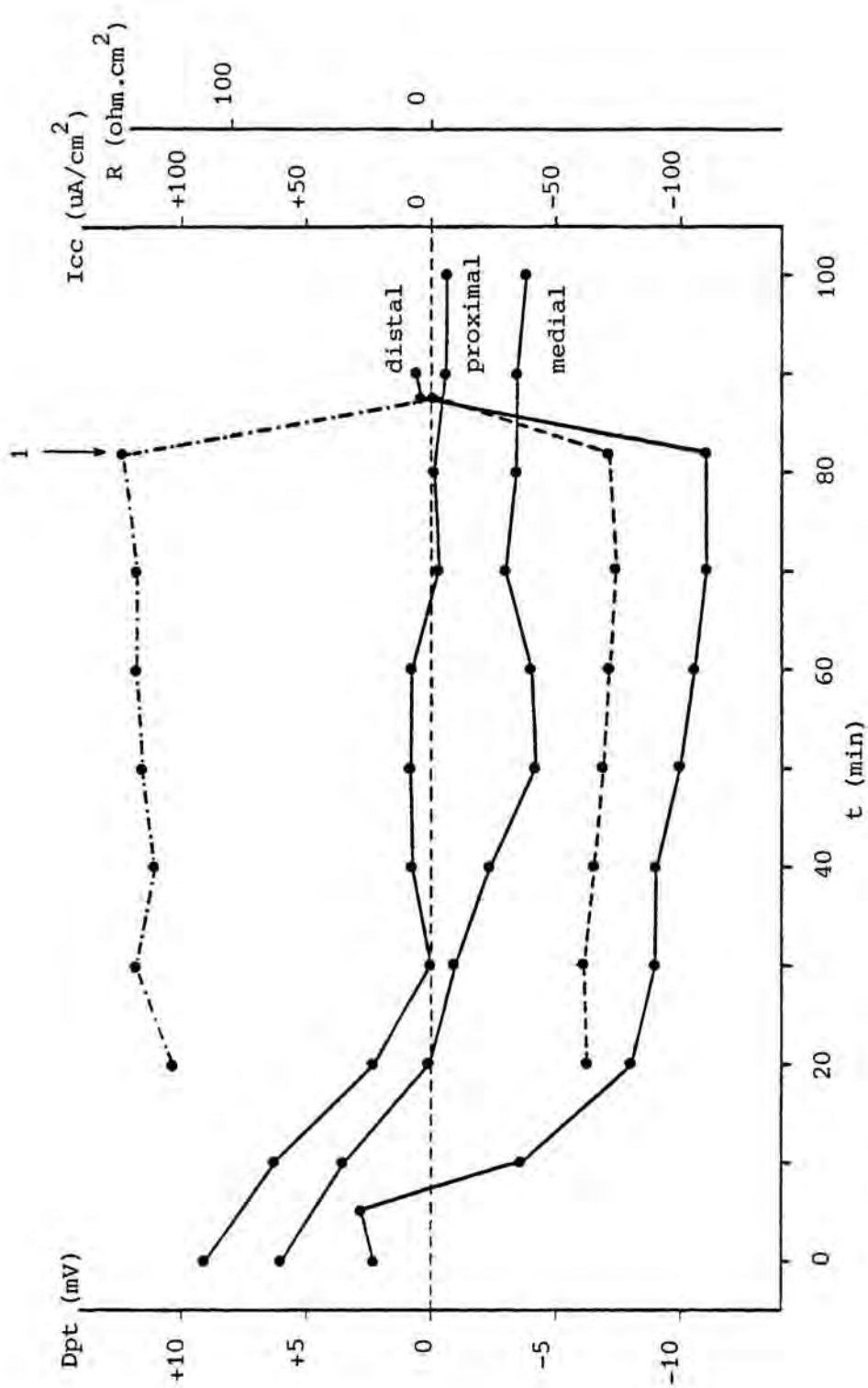


FIGURA 38: Dpt (—), Icc (---) i R (-.-.-) a la mucosa aïllada del recte de pollastre. 31°C.
 1: addició de trití al costat mucosal de la part distal.
 Dades corresponents a un sol experiment.
 +: serosa positiva, -: serosa negativa.

5. DISCUSSIO

A l'apartat 4.2. es pot veure el gran nombre de resultats significatius obtinguts a partir dels experiments realitzats. Per aquesta raó, s'ha decidit limitar aquesta discussió a la dels resultats més sobresortints, tant des del punt de vista metodològic com fisiològic.

5.1. COLON DE RATA

La majoria dels experiments fets en el còlon de rata s'han fet amb l'intestí sencer, és a dir, sense separar la capa serosa. Si bé els valors absoluts de la Dpt depenen de la composició del medi d'incubació, s'ha volgut estudiar l'efecte del temps sobre el potencial transmural, posant-se de manifest que la Dpt és una funció del temps. Això vol dir que els canvis del potencial segueixen una determinada corba de disminució, que en aquest cas és de tipus parabòlic, com es mostra a les figures 17, 18 i 19. Aquests canvis de la Dpt difereixen en part dels observats per Edmonds i Marriott (1968), ja que aquests autors observen un lleuger augment del potencial immediatament després de muntar el teixit en les cambres, seguit d'una fase estable de Dpt de 10 a 20 min. A partir d'aquest moment, Edmonds i Marriott (1968) observen una disminució gradual de potencial anàloga a la observada en aquest estudi. En el conill, Schultz i Zalusky (1964) no observen cap augment inicial, sino que la Dpt disminueix gradualment des del moment inicial.

Al començament es van fer experiments incubant el teixit a 37°C, observant-se que la disminució de la Dpt en front del temps era molt ràpida. Aquests canvis es van atribuir a una disminució de la resistència del teixit que feia més petita la seva capacitat per separar càrregues i, per tant, per mantenir la Dpt. En aquest sentit, Cremaschi i col. (1982) van observar que l'ili de conill manté millor les seves propietats

elèctriques quan s'incuba a 30°C que a 37°C.

Per tal de comprovar si la disminució de la temperatura d'incubació millorava els valors de Dpt, es van fer experiments a 25°C i a 31°C. Els resultats mostraren dues coses: en primer lloc, el valor inicial de Dpt és més alt com menor és la temperatura (veure figura 15); en segon lloc, la caiguda del potencial és menys acusada com menor és la temperatura (veure figura 15), d'acord amb la hipòtesi inicial.

Aquesta relació entre Dpt i temperatura difereix de la observada per Edmonds i Marriott (1968) que observen que la Dpt es triplica al passar la temperatura de 12°C a 32°C. Aquests resultats, però, són difícils de comparar amb els d'aquest estudi ja que aquests autors no indiquen a quin moment s'han pres les mesures, és a dir, no es sap si pertanyen a la fase inicial, a l'estable o a algun moment de la fase de disminució gradual de la Dpt.

Una de les condicions que es va controlar en cada experiment va ésser el temps de muntatge del teixit en les cambres (temps transcorregut des de l'extracció del segment intestinal de l'abdomen de l'animal fins que el teixit està en condicions semblants a les fisiològiques). En un principi no s'havia considerat la possibilitat de tractar aquest factor amb un caràcter propi, estudiant la seva influència en el valor que pren la Dpt. Però finalment es va creure interessant incloure'l dintre de l'estudi estadístic per models lineals.

Els resultats obtinguts varien depenent dels substrats presents en el medi. Quan el medi conté glucosa i àcid β -hidròxibutíric s'observa una disminució del valor mig de la Dpt, més gran quan més temps es té el teixit en condicions d'anòxia. Aquests resultats estan d'acord amb les conclusions de Gardner (1978) referides a aquest tema, que asse-

nyalen una gran importància del temps en que el teixit està en condicions d'anòxia en la viabilitat de la preparació. La raó per la que en els casos dels medis Ringer i Ringer amb glucosa no s'observa aquest efecte probablement sigui la manca d'un disseny inicial dels experiments encaminat cap a l'observació d'aquest efecte.

Un altre aspecte interessant és el de la importància de la presència de substrats metabolitzables en el medi d'incubació, en el manteniment de la Dpt. Edmonds i Marriott, el 1968, van afegir acetat i succinat al medi de Krebs per tal de retrassar la caiguda de la Dpt al llarg del temps, sense aconseguir-ho. En aquest estudi s'han provat medis de cultiu de teixits (Leibovitz-L15 i 199 modificat) així com els de Krebs-Henseleit i Ringer, amb o sense substrats metabolitzables. Els resultats obtinguts amb medis de cultiu i els de Krebs van demostrar que eren molt poc adequats pel manteniment de la viabilitat del teixit, i no es van incloure en el tractament global de les dades. Els resultats obtinguts amb Ringer sol (Rg), Ringer amb glucosa (RgG) i Ringer amb glucosa i àcid β -hidròxibutíric (RgGB), demostren que la caiguda de la Dpt és menor amb RgGB que amb els altres medis emprats. Dels dos substrats del RgGB, sembla que el responsable de la millora observada és l'àcid β -hidròxibutíric, ja que no s'han observat diferències entre Rg i RgG.

En els estudis de fluxos de ions a través d'epitelis és freqüent afegir substrats metabolitzables al medi d'incubació. Així, Binder i Rawlins (1973) han observat que en el còlon de rata l'addició de glucosa augmenta el flux net del ió sodi i del clorur al actuar com a font d'energia pel manteniment del transport actiu.

L'estudi de les possibles diferències en la Dpt del còlon descendent proximal i distal, demostra que quan es compara aquest paràmetre amb independència del medi d'incubació,

no hi han diferències significatives entre ambdues zones, d'acord amb el observat per Edmonds i Marriott (1968) i Binder i Rawlins (1973). En canvi, quan es comparen les Dpt de la zona proximal i distal, tinguent en compte el tipus de medi, s'observa que són diferents quan en el medi hi ha substrats metabolitzables. Les diferències de zona segons la composició del medi d'incubació s'han doncs de tenir en compte a l'hora de fer futurs estudis en aquest segment intestinal.

A la última part de l'estudi realitzat en el còlon de rata es va disposar ja del sistema per a la mesura de la Icc. Aquest paràmetre disminueix al llarg del temps de manera semblant al que s'havia observat amb la Dpt (figura 21), si bé s'estabilitza a partir dels 25 min. Els valors que pren entre l'inici de l'experiment i la fase estable estan compresos entre 71 i 37 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Aquests valors són similars als observats per Binder i Rawlins (1973) en el còlon sencer de rata als 80 min d'incubació, i inferiors als descrits per Edmonds i Marriott (1968) a la mucosa aïllada, si bé aquests autors darrers no indiquen el temps en que han fet les mesures.

A partir de la Dpt i de la Icc s'ha calculat la resistència del teixit. Aquest paràmetre també disminueix al llarg del temps (figura 21) prenent uns valors compresos entre 143 Ω/cm^2 al començament i 105 Ω/cm^2 als 60 min d'incubació. Aquestes xifres són comparables amb les obtingudes per Edmonds i Marriott (1968) al còlon descendent de rata.

Els experiments realitzats fins aquí han servit no només per a la posta a punt i comprovació de la fiabilitat de la tècnica, sino també per a fer un estudi de la resposta de l'epiteli del còlon descendent de rata a una sèrie de condicions experimentals.

5.2. ILI, CEC I RECTE DE POLLASTRE

Els paràmetres elèctrics intestinals de l'espècie Gallus gallus domesticus, L. han sigut estudiats per diversos grups, si bé el més relevant és el d'en Erik Skadhauge, ara al Departament de Fisiologia i Bioquímica Veterinària de la Royal Veterinary and Agricultural University de Copenhague. Aquest grup s'ha dedicat especialment a l'estudi de les característiques elèctriques i del transport dels segments distals de l'intestí de la gallina, especialment recte i coprodeum (Skadhauge, 1973; Skadhauge, 1981).

La majoria dels experiments d'aquest treball s'han fet amb segments intestinals del pollastre. Gran part dels experiments s'han fet amb el cec i el recte, si bé també s'han estudiat les propietats elèctriques de l'ili, com exemple d'un epiteli lax.

En primer lloc s'ha estudiat l'evolució de la Dpt i la Icc agafant el conjunt de totes les dades (mucosa aïllada i budell sencer) de ili, cec i recte. La variació de la Dpt al llarg del temps a l'ili (9 cambres), cec (37 cambres) i recte (45 cambres) indica que aquest paràmetre disminueix durant els primers minuts fins que pràcticament s'estabilitza als 30-40 min d'incubació. Això representa una notable diferència respecte el que s'havia observat en el còlon de rata, on la Dpt s'estabilitza molt més tard. En el cas de la Icc, el tractament conjunt de les dades de l'ili (8 cambres), cec (19 cambres) i recte (38 cambres) indica que aquest paràmetre es manté estable durant almenys 100 min d'incubació. Fins i tot augmenta lleugerament ja que el pendent és positiu, com es mostra a la figura 35, si bé no hi ha diferència significativa entre els valors a l'inici de l'experiment i al minut 100. En una paraula, la Icc és un paràmetre independent del temps. Aquests resultats donen suport a la idea de que l'intestí de pollas-

tre és més adequat que el còlon de rata per estudis 'in vitro' ja que es manté viable durant llargs períodes d'incubació.

En els experiments en el pollastre s'han corroborat els efectes que tenen el temps de muntatge i la temperatura sobre el valor de la Dpt mesurada, observats també en el cas del còlon de rata. Efectivament, al augmentar el temps de muntatge el valor mig de la Dpt és menor. En canvi, la Icc no sembla afectada pel temps de muntatge. La temperatura del medi d'incubació afecta ambdós paràmetres elèctrics doncs hi ha una relació inversa entre la temperatura i la Dpt o la Icc. Aquests efectes donen, per tant, suport a la idea de que la integritat i la viabilitat del teixit intestinal incubat en les cambres de flux es manté millor a menor temperatura que la fisiològica.

Donat que els pollastres utilitzats en aquests estudi tenien edats compreses entre 55 i 123 dies, en el tractament de les dades s'ha introduït la possible importància de la variable 'edat' sobre els paràmetres mesurats. Els resultats indiquen que la Dpt augmenta 0,05 mV/dia i la Icc 0,9 uA/cm²/dia. Això significa que entre els animals del marge d'edat mencionat, els més vells tenen més capacitat de transport net de càrregues positives o bé de separació de càrregues a través de l'epiteli. El paper de l'edat en la Dpt i la Icc demostrat en aquest estudi, també sugereix que a l'hora de comparar els fenòmens elèctrics de grups d'animals diferents s'ha de procurar que siguin d'edat semblant per evitar influències d'aquesta variable.

Després de la discussió global es passa a considerar els segments per separat.

En el cas del recte, tots els experiments s'han fet amb la preparació denominada 'mucosa aïllada', a dues temperatures (31°C i 37°C). A 37°C la Dpt inicial té un valor molt baix, de -0,4 mV (serosa positiva), que paulatinament es fa

primer zero i després es converteix en un valor més gran d'aproximadament +2mV, sent la serosa negativa, quan la preparació s'ha estabilitzat al cap de 30 min. Aquest valor de Dpt difereix de l'observat per Holtug i Skadhauge (1982) ja que aquests autors obtenen un valor de -13 mV (serosa positiva) en animals alimentats amb una dieta anàloga a la emprada en el present estudi, si bé aquests autors van fer els experiments amb femelles de la raça White Plymouth Rock, mentre que aquí s'han fet servir mascles de la raça Leghorn. El més significatiu dels nostres resultats és el fet de trobar una Dpt amb la polaritat invertida i, per tant, també un corrent de curt-circuit negatiu (-49 uA/cm^2 a la fase estable) que va del compartiment serosal al mucosal. Aquesta situació dóna lloc a un predomini de càrregues positives a la banda mucosal respecte a la serosal. Quelcom semblant es dóna en el peix Blennius parvicornis (Bolaños i col., 1984) i en el llenguado (Field, 1977) explicant-se la inversió de la polaritat per un transport net de càrrega negativa cap a la banda serosal, deguda al retorn dels ions sodi que surten per la membrana basolateral dels enteròcits cap a la llum intestinal a través de la via paracel.lular.

Per posar a prova aquesta hipòtesi, s'han fet experiments incubant el recte amb TAP, substància que té la propietat de reduir el pas de cations per la via paracel.lular (Moreno, 1975; Naftalin i Simmons, 1979). Els experiments consistiren en afegir TAP quan el recte s'havia estabilitzat al cap de 50 min (figura 32). Després de l'addició del TAP, i al cap de 20-30 min, es va observar com la polaritat s'invertia de nou, de manera que la Dpt passava a ser d'uns -6 mV (serosa positiu), recolzant així la hipòtesi de que l'anòmala polaritat del recte és deguda a que la permeabilitat de la via paracel.lular als cations es troba augmentada.

La capacitat de transport de ió sodi dels epitelis és un procés regulat principalment per l'hormona aldosterona. Els nivells de ió sodi en el líquid extracel.lular són, a la ve-

gada, el principal regulador de la secreció de la hormona. Això constitueix un mecanisme de retroalimentació negativa, de manera de que quan els nivells circulants de ió sodi són alts, s'inhibeix la secreció d'aldosterona, el que fa que el transport intestinal d'aquest catió estigui parcialment inhibit.

Aquesta és la situació en els animals que reben una dieta amb una alta quantitat de ió sodi: l'aport d'aquest catió és suficient i per tant no calen gaires transportadors de ió sodi a l'enteròcit per nodrir l'animal amb els requeriments de ió sodi adequats. Aquesta situació ha sigut observada en el còlon i el coprodeum de gallines per Rice i Skadhauge (1982), Holtug i Skadhauge (1982) i Skadhauge (1984). Aquests autors han demostrat que quan es suprimeix parcialment el ió sodi de la dieta, la Dpt i la Icc augmenten, i que aquests efectes es poden correlacionar amb un augment amb els nivells circulants d'aldosterona.

Per comprobar la capacitat d'adaptació dels pollastres que aquí s'utilitzen al contingut de ió sodi de la dieta, es va mantenir un grup d'animals amb una dieta de baix contingut de ió sodi a base de blat i ordi. En aquests pollastres, la Dpt era d'uns $-6,5$ mV a la fase estable (serosa positiu) i la Icc de 35 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ en sentit mucosal-serosal. Aquest marcat canvi en les propietats elèctriques del recte sugereix una adaptació a la disminució del contingut de ió sodi de la dieta, i que es passa d'un epiteli que secreta càrregues positives (Na^+ , K^+) a un altre que absorbeix cations (principalment Na^+) activament.

En l'apartat 2.2.3. s'ha explicat que el principal responsable de la Icc és el transport de ió sodi per la membrana basolateral de l'enteròcit. L'origen d'aquest ió és, naturalment, el compartiment mucosal; per tant, la substitució per un altre de no permeable (colina) dona lloc a l'anulació de la Icc. En el cas dels pollastres alimentats amb dieta

rica en ió sodi, la substitució del catió del medi d'incubació fa que el compartiment mucosal es torni lleugerament més positiu que el serosal (figura 28), probablement perquè l'augment del gradient del ió sodi entre el teixit i el medi provoca la sortida de més ions cap a la llum intestinal que no cap al compartiment serosal. En canvi, quan el pollastre ha estat alimentat amb una dieta amb baix contingut en ió sodi, la substitució d'aquest ió del medi d'incubació per un catió poc absorbible fa que la Dpt prengui valors molt baixos, d'uns 1,3 mV (figura 30), suggerint que en aquestes condicions el principal responsable de la Dpt (i per tant també de la Icc) és el flux del ió sodi des del cantó mucosal al serosal.

Un altre aspecte interessant d'aquest estudi és el que fa referència a les diferències trobades entre tres zones del recte. El model lineal del recte ha demostrat que hi han diferències significatives entre els valors de la Dpt i la Icc a les zones proximal, medial i distal del recte (figura 35). Aquests resultats difereixen dels obtinguts per Thomas i col., (1980) que no van ésser capaços de trobar cap diferència entre les zones proximal i distal del recte, qualsevol que fos el medi d'incubació i la dieta donada.

Un altre dels segments intestinals que tenia un gran interès és el cecal. Els cecs de pollastre són objecte d'estudi, des de fa temps, en el laboratori on s'ha fet aquest treball, havent-se demostrat que l'epiteli del cec proximal és capaç d'absorbir monosacàrids i aminoàcids per mecanismes actius (Ferrer i col., 1985; Moretó i col., 1983; Gonzalez de Pedro, 1985). Per tant, el coneixement de les propietats elèctriques del segment cecal contribueix a la millor comprensió de les seves funcions.

Degut a que la zona proximal del cec és molt estreta i no s'adapta al diàmetre de les cambres, l'estudi d'aquest segment s'ha limitat a les zones medial i distal. A 37°C, la Dpt

d'aquest segment és d'uns -11 mV (serosa positiu), més elevada que la trobada a l'ili i al recte, i lleugerament més alta que la descrita per Rice i Skadhauge (1982) al cec de gallina. La Icc és d'uns 42 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$, notablement més alta que la de l'ili i recte en les mateixes condicions experimentals. La supressió del ió sodi del medi redueix la Dpt fins a $-1,5$ mV i la Icc fins a 10 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Aquestes dades indiquen que el cec té una marcada capacitat per absorbir el ió sodi, el que confereix a aquest segment intestinal una importància funcional en l'homeostasi d'aquest catió.

A la majoria dels experiments realitzats amb l'intestí de pollastre, s'han fet addicions de diversos agents amb l'objecte d'observar la resposta i la sensibilitat dels epitelis a cada un dels tractaments. A part de la supressió del ió sodi del medi d'incubació, ja comentada, s'ha afegit l'aminoàcid leucina per tal de veure si això modifica la Icc. Aquest tipus d'experiment pretén demostrar, si bé indirectament, l'existència de mecanismes de cotransport d'aminoàcids i ió sodi, tal com s'explica en l'apartat 2.2.3. Un altre tipus d'experiment consisteix en estudiar l'efecte de l'addició d'amilorida sobre els paràmetres elèctrics. D'aquesta manera els epitelis es poden classificar segons la seva sensibilitat al diurètic, ja que actua inhibint els canals apicals del ió sodi. També s'ha estudiat l'efecte de l'addició de ouabaïna, inhibidor del transport basolateral del ió sodi, per confirmar la dependència de la Dpt i la Icc del transport del catió. Finalment, s'ha estudiat l'efecte del detergent tritó X-100. Aquest agent desnaturalitza les membranes i es fa servir per demostrar que els fenòmens elèctrics intestinals depenen de la integritat de l'epiteli (Mitjavila i col., 1973). Aquesta demostració és molt important perquè a l'ili de conill s'ha demostrat que part dels efectes de la teofilina sobre els paràmetres elèctrics són deguts a accions sobre la banda muscular serosal i no sobre la banda mucosal (Smith i Naftalin, 1984).

L'addició de leucina al medi mucosal a les tres zones del recte no ha produït canvis significatius en la Icc ni en la Dpt. Això indica que, o bé no hi ha transport de leucina acoblat al ió sodi en aquest epitelí, o bé que si n'hi ha es tant petit que el transport del ió sodi addicional representa una proporció molt petita del total.

L'amiloride afegit al cantó serosal no té efecte sobre els paràmetres elèctrics, d'acord amb el seu mecanisme a nivell mucosal. En canvi, quan s'afageix al cantó mucosal produeix una marcada inhibició de la Dpt i de la Icc. Aquest efecte ha sigut observat tant en el recte com en el cec (figures 23, 31, 33). En el cas del recte, els resultats difereixen dels descrits per Lind i col., (1980) en la gallina, ja que aquests autors no van observar efecte del diurètic quan els animals eren alimentats amb una dieta amb alt contingut en ió sodi. En resum, tant el cec com el recte mostren una alta sensibilitat a l'amiloride en les condicions experimentals emprades.

La ouabaïna té efecte en els tres segments de budell estudiats quan s'afageix al cantó serosal, donant lloc a una disminució gradual més gran de la Dpt i la Icc. En el recte és on disminueix més depressa, seguit del cec. Això indica que aquest glucòsid és més accessible a l'epitelí del recte que al del cec, probablement per un menor gruix de les capes musculars en la preparació de mucosa aïllada de recte respecte el del cec.

L'efecte del tritó sobre els paràmetres elèctrics no es contempla en el model doncs té un efecte anul·lador de la Dpt i la Icc que és irreversible en els tres segments estudiats. Això indica que els paràmetres elèctrics que s'han mesurat s'originen exclusivament a l'epitelí i no a cap altra zona o tipus cel·lular del teixit (figures 36, 37, 38).

6. CONCLUSIONS

1. S'ha posat a punt la tècnica per a la mesura de la Dpt i la Icc a l'epiteli del budell emprant cambres tipus Ussing.
2. Els valors de Dpt obtinguts en la rata utilitzant medi Ringer, o les seves variants, com a medi d'incubació són més elevats i es mantenen més estables al llarg del temps que els obtinguts emprant medi Krebs-Henseleit o medis de cultiu de teixits. Degut a això es considera el medi Ringer el més apropiat per a fer mesures de paràmetres elèctrics.
3. La presència d'àcid β -hidroxibutíric en el medi com a substrat metabolitzable millora la resposta de l'epiteli del còlon de rata disminuint el pendent de la variació de la Dpt amb el temps, respecte a quan no hi ha aquesta substància en el medi.
4. Cal tenir en compte quina és la zona del còlon descendent que s'estudia a l'hora de fer futurs estudis en aquest segment intestinal, doncs els valors de la Dpt varien segons la zona, i a més estan relacionats amb el medi d'incubació que s'utilitza.
5. La variació de la Dpt en front del temps segueix una funció quadràtica, tant en el cas del còlon de rata com en el del budell de pollastre. En la primera espècie, la disminució en front del temps és molt acusada, sense arribar a estabilitzar-se completament. En el segon cas, hi ha una primera disminució de la Dpt estabilitzant-se aproximadament als 30 min, i mantinguent-se estable durant al menys 100 min d'incubació. La Icc en el budell del pollastre és un paràmetre independent del temps.
6. En el recte de pollastre s'observa una Dpt amb la polaritat invertida (serosa negativa). Al incubar afegint TAP al medi, s'observa una reinversió de la polaritat.

Això indica que en condicions normals hi ha una elevada permeabilitat de la via paracel·lular als cations, el que fa que hi hagi un retorn dels ions sodi que surten per la membrana basolateral dels enteròcits cap a la llum intestinal.

7. En el recte dels pollastres mantinguts amb una dieta pobre en ió sodi, s'observa que hi ha un canvi en la polaritat de la Dpt respecte als que han rebut molta quantitat d'aquest ió, de forma que la serosa és positiva respecte la mucosa. Això demostra que el pollastre s'adapta a la menor ingesta de ió sodi estimulants l'absorció activa d'aquest catió.
8. Hi ha diferències significatives entre els valors de la Dpt i la Icc a les zones proximal, medial i distal del recte de pollastre.
9. La Dpt al cec és més elevada que al recte, i té una marcada sensibilitat a la supressió del ió sodi del medi d'incubació. Això indica que el cec té una marcada capacitat per absorbir el ió sodi, i per tant, una funció important en l'homeostasi d'aquest catió.
10. Tant el cec com el recte presenten una alta sensibilitat a la presència del diurètic amiloride en la solució mucosal. La ouabaïna actua sobre el costat serosal inhibint la bomba de Na/K i produint una disminució de la Dpt en front del temps força acusada.
11. Els paràmetres elèctrics mesurats tenen el seu origen a l'epiteli, doncs al destruir aquesta capa del teixit amb Tritó, s'anul·len els valors de Dpt i Icc.

7. BIBLIOGRAFIA

- Beall, P.T.; Karnaky, K.J.; Garretson, L.T.; Kuo, Y. i Shanbour, L.L. (1983). Inhibition of active sodium transport by citochalasin B in rat jejunum in vitro. *Biochim. Biophys. Acta*, 763, 19-26.
- Binder, H.J. i Rawlins, C.L. (1973). Electrolyte transport across isolated large intestinal mucosa. *Amer. J. Physiol.*, 255, 1232-1239.
- Bolaños, A. i Lorenzo, A. (1984). Transmural potential differences and short-circuit current intensity in the posterior intestine of *Blennius parvicornis*. *Rev. Esp. Fisiol.*, 40, 117-122.
- Bolaños, A.; Lorenzo, A. i Gómez, T. (1984). Bioelectric parameters and sodium and chloride fluxes across the intestine of *Blennius parvicornis*. *Rev. Esp. Fisiol.*, 40, 455-462.
- Brown, A.C. (1974). Passive and active transport. Cap. 24 del llibre 'Physiology and Biophysics II', edició nº20. Ed. Ruch, T.C. i Patton, H.B. W.B. Saunders Company, Philadelphia - London - Toronto.
- Chosniak, I., Munck, B.G. i Skadhauge, E. (1977). Sodium chloride transport across the chicken coprodeum. Basic characteristics and dependence on sodium chloride intake. *J. Physiol. (Lond)*, 271, 489-504.
- Cremashi, D.; James, P.S.; Meyer, G.; Peacock, M.A. i Smith, M.W. (1982). Membrane potentials of differentiating enterocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, 688, 271-274.
- Devaux, G. (1974). 'Técnicas de Bioquímica Clínica'. Ed. Jims, Barcelona.
- Dumas, J. (1953). 'Les animaux de laboratoire'. pp 45-68, Collection de l'Institute Pasteur, Editions Médicales Flammarion, Paris.
- Eckert, R. i Randall, D. (1978). Osmoregulation and excretion. Cap. 12 del llibre 'Animal Physiology'. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Edmonds, C.J. (1967). The gradient of electrical potential difference and of sodium and potassium of the gut contents along the caecum and colon of normal and sodium depleted rats. *J. Physiol. (Lond)*, 193, 571-588.
- Edmonds, C.J. i Marriott, J. (1968). Electrical potential and short-circuit current of an in vitro preparation of rat colon mucosa. *J. Physiol. (Lond)*, 194, 479-494.
- Edmonds, C.J. i Pilcher, D. (1972). Sodium transport mechanisms of the large intestine. Cap. 4 del llibre 'Transport across the intestine. A glaxo symposium'. Ed. Burland i Samuel, Churchill Livingstone, Edinburgh - London.

- Ferrer, R.; Planas, J.M. i Moretó, M. (1985). An hexose transport system in chicken proximal cecum enterocytes. Accepted pel '25 years of research on the brush border membrane and sodium coupled transport'. A celebrar a Aussois (França) el setembre de 1985.
- Field, M. (1977). Membrane Transport Processes, Vol. 1. pp 277-292. Ed. Hoffman, J.F., Raven Press, New York.
- Field, M.; Fromm, D. i McColl, I. (1971). Ion transport in rabbit ileal mucosa. I. Na and Cl fluxes and short-circuit current. Amer. J. Physiol., 220, 1388-1396.
- Finkelstein, A. i Mauro, A. (1977). Physical principles and formalisms of electrical excitability. Cap. 6 del llibre 'Handbook of Physiology. Section 1: The Nervous System'. American Physiological Society, Bethesda, Maryland.
- Frizzell, R.A. i Schultz, S.G. (1979). Models of electrolyte absorption and secretion by gastrointestinal epithelia. Cap. 5 del llibre 'Gastrointestinal Physiology III'. Ed. Crane, R.K. i Guyton, A.E. University Park Press, Baltimore.
- Fromm, M. i Hegel, U. (1978). Segmental heterogeneity of epithelial transport in rat large intestine. Pflügers Arch., 378, 71-83.
- Gardner, M. (1978). The absorptive viability of isolated intestine prepared from dead animals. Quaterly J. Exp. Physiol., 63, 93-95.
- Gonzalez de Pedro, E.; Planas, J.M.; Ferrer, R. i Moretó, M. (1984). Acumulación de aminoácidos por células aisladas de ciego y yeyuno de pollo (*Gallus gallus domesticus* L.). XX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas. Murcia, Marzo 1984.
- Gordon, A.M. i Woodbury, J.W. (1966). Action potential: properties of excitable membranes. Cap. 2 del llibre 'Physiology and Biophysics', edició nº19. Ed. Ruch-Patton, Howell-Fulton, Philadelphia - London.
- Guttman, J. (1982). 'Linear models, an introduction'. Wiley Interscience, London.
- Hodges, R.D. (1974). The digestive system. Cap. 2 del llibre 'The histology of the fowl'. Academic Press Inc., London.
- Holtug, K. i Skadhauge, E. (1982). Effects of varying mucosal medium on electrical parameters of the isolated lower intestine of the hen. Comp. Biochem. Physiol., 72A, 689-692.
- Holtug, K. i Skadhauge, E. (1982). NaCl transport across hen colon. Dependence on electro-chemical driving force. Pflügers Arch., 394, 222.

- Holtug, K. i Skadhauge, E. (1982). Sodium and chloride transport across chicken colon: dependence on Na concentration and electrical force. pp 177-180 del llibre 'Electrolyte and water transport across gastrointestinal epithelia'. Ed. Case, R.M. et al, Raven Press, New York.
- Huf, E.G. (1979). Echoes of the past. Reflections on the early history of the concept of active transport. *The Physiologist*, 22, 18-24.
- Ives, D.I. i Janz, D.I. (Eds), (1961). 'References Electrodes. Theory and Practice'. pp 127-129 i 179-181. Academic Press, New York.
- Jackson, T.E. (1984). Comparison of a class regression equations. *Am. J. Physiol.*, 246, R271-R276.
- Kimmich, G.A. (1984). Sodium electrochemical gradients and intestinal absorption. pp 115-132 del llibre 'Intestinal Toxicology'. Ed. Schiller, C.M. Raven Press, New York.
- Lim, S- i Low, F.N. (1977). Scanning electron microscopy of the developing alimentary canal in the chick. *Am. J. Anat.*, 150, 149-174.
- Lind, J.; Munck, B.G.; Olsen, O. i Skadhauge, E. (1980). Effects of sugars, aminoacids and inhibitors on electrolyte transport across hen colon at different sodium chloride intakes. *J. Physiol. (Lond)*, 305, 315-325.
- Lyngdorf-Henriksen, P.; Munck, B.G. i Skadhauge, E. (1978). Sodium chloride transport across the lower intestine of the chicken. *Pflügers Arch.*, 378, 161-165.
- Mitjavila, M.T.; Mitjavila, S. i Derache, R. (1973). Mesures du métabolisme et de la lyse des cellules épithéliales isolées de l'intestin du rat incubées en présence de divers détergents. *Toxicol.*, 1, 237-248.
- Moog, F. (1982). El revestimiento del intestino delgado. *Investigación y Ciencia*, 64, 92-102.
- Moreno, J.H. (1975). Blockage of gallbladder tight junction cation-selective channels by 2,4,6-triaminopyrimidinium (TAP). *J. Gen. Physiol.*, 66, 97-115.
- Moretó, M.; Ferrer, R.; Villà, M.C. i Planas, J.M. (1983). Sugar transport by chicken cecum (resum). *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 7, 508.
- Naftalin, R.J. i Simmons, N.L. (1979). The effects of theophylline and cholera toxin on sodium and chloride ion movements within isolated rabbit ileum. *J. Physiol. (Lond)*, 326, 1-20.
- Nellans, H.N.; Frizzell, R.A. i Schultz, S.G. (1973). Coupled sodium-chloride influx across the brush border of rabbit ileum. *Am. J. Physiol.*, 225, 467-475.

- Phillips, S.F. i Devroede, G.I. (1979). Functions of the large intestine. Cap. 7 del llibre 'Gastrointestinal Physiology III. International Review of Physiology'. Ed. Crane, R.K., University Park Press, Baltimore.
- Rask-Madsen, J. (1973). Simultaneous measurement of electrical polarization and electrolyte transport by the entire normal and inflamed human colon during in vivo perfusion. *Scand. J. Gastroenterol.*, 8, 327-336.
- Rice, G.E. i Skadhauge, E. (1982). The in vivo dissociation of colonic and coprodeal transepithelial transport in NaCl depleted domestic fowl. *J. Comp. Physiol.*, 146, 51-56.
- Rice, G.E. i Skadhauge, E. (1982). Caecal water and electrolyte absorption and the effects of acetate and glucose, in dehydrated, low-NaCl diet hens. *J. Comp. Physiol.*, 147, 61-64.
- Rice, G.E. i Skadhauge, E. (1982). Colonic and coprodeal transepithelial transport parameters in NaCl-loaded domestic fowl. *J. Comp. Physiol.*, 147, 65-69.
- Schultz, S.G. (1981). Salt and water absorption by mammalian small intestine. Cap. 37 del llibre 'Physiology of the Gastrointestinal Tract'. Ed. Johnson, Raven Press, New York.
- Schultz, S.G. (1980). 'Basic principles of membrane transport'. pp 21-24 i 116-131. IUPAB Biophysics Series, Cambridge University Press, Cambridge - London - New York.
- Schultz, S.G. (1981). Ion transport by mammalian large intestine. Cap. 38 del llibre 'Physiology of the Gastrointestinal Tract'. Ed. Johnson, L.R., Raven Press, New York.
- Schultz, S.G. i Zalusky, R. (1964). Ion transport in isolated rabbit ileum. I. Short-circuit current and Na fluxes. *J. Gen. Physiol.*, 47, 567-584.
- Simmons, N.L. i Naftalin, R.J. (1976). Bidirectional sodium ion movements via the paracellular and transcellular routes across short-circuited rabbit ileum. *Biochim. Biophys. Acta*, 448, 426-450.
- Skadhauge, E. (1973). Renal and cloacal salt and water transport in the fowl (*Gallus gallus domesticus*). pp 1-82 del Danish Medical Bulletin, vol. 20. The Danish Medical Association, Copenhagen.
- Skadhauge, E. (1981). Function of the cloaca. Cap. 6 del llibre 'Osmoregulation in Birds'. Ed. Farner, D.S., Berlin - Heidelberg - New York.
- Skadhauge, E. (1981). Uptake through the gut. Cap. 3 del llibre 'Osmoregulation in Birds'. Ed. Farner, D.S., Berlin - Heidelberg - New York.

- Skadhauge, E. (1984). Introduction of an epithelium with huge variation in sodium transport and novel aldosterone effects. Cap. 17 del llibre 'Intestinal Absorption and Secretion, Falk Symposium 36'. Ed. Skadhauge, E. i Heintze, K., MTP Press Limited, Lancaster - Boston.
- Smith, P.L. i McCabe, R.D. (1984). Mechanism and regulation of transcellular potassium transport by the colon. *Am. J. Physiol.*, 247, G445-G456.
- Smith, P.M. i Naftalin, R.J. (1984). The submucosa generates the transepithelial potential difference in secretion. VIth Meeting of the European Intestinal Transport Group. Pamplona, setembre 1984.
- Snipes, R.L. (1981). Anatomy of the cecum of the laboratory mouse and rat. *Anat. Embryol.*, 162, 455-474.
- Specht, W. (1977). Morphology of the intestinal wall: its mucous membrane under normal and experimental conditions. pp 4-40 del llibre 'Intestinal Permeation'. Ed. Kramer, M. i Lauterbach, F. Excerpta Medica, Amsterdam - Oxford.
- Sturkie, P.D. (1967). 'Fisiologia Aviar'. pp 219-222. Ed. Acribia, Zaragoza.
- Thomas, D.H., Jallageas, M.; Munck, B.G. i Skadhauge, E. (1980). Aldosterone effects on electrolyte transport of the lower intestine (coprodeum and colon) of the fowl (*Gallus domesticus*) in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 40, 44-51.
- Thompson, S.H.; Suzuki, Y. i Schultz, S.G. (1982). The electrophysiology of rabbit descending colon. I. Instantaneous transepithelial current-voltage relations and the current-voltage relations of the Na-entry mechanism. *J. Membrane Biol.*, 66, 41-54.
- Trier, J.S. i Madara, J.L. (1981). Functional morphology of the mucosa of the small intestine. Cap. 35 del llibre 'Physiology of the Gastrointestinal Tract'. Ed. Johnson, L.R., Raven Press, New York.
- Ussing, H.H. i Zerahn, K. (1951). Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. *Acta Physiol. Scand.*, 23, 110-127.
- Valls, O. (1979). Métodos potenciométricos. Cap. 5 del llibre 'Técnicas Instrumentales en Farmacia y Bioquímica Clínica'. Docinfarma S.A. Ediciones científicas, Barcelona.
- Wheather, P.R.; Burkitt, H.G. i Daniels, V.G. (1980). 'Histología Funcional'. pp 195-198. Ed. Jims, Barcelona.
- Will, P.C.; Lebovitz, F.L. i Hopfer, U. (1980). Induction of amiloride-sensitive sodium transport in the rat colon by mineralocorticoids. *Am. J. Physiol.*, 238, F261-F268.

- Williams, D.; Phillips, J. i Prince, E. (1978). The source of short-circuit current across locust rectum. *J. Exp. Biol.*, 17, 107-122.
- Wills, N.K. (1984). Regulation of Na transport across tight epithelia. Cap. 19 del llibre 'Intestinal Absorption and Secretion. Falk Symposium 36'. Ed. Skadhauge, E. i Heintze, K., MTP Press Limited, Philadelphia - London.
- Woodbury, J.W. (1966). The cell membrane: ionic and potential gradients and active transport. Cap. 1 del llibre 'Physiology and Biophysics', edició nº19. Ed. Ruch-Patton, Howell-Fulton, Philadelphia - London.