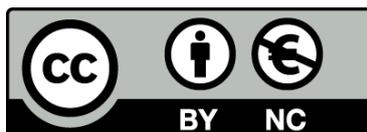




UNIVERSITAT<sub>DE</sub>  
BARCELONA

## Influencia de la edad sobre la absorción de azúcares por intestino delgado de rata "in vivo"

M<sup>a</sup> Pilar Vinardell Martínez-Hidalgo



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0. Spain License.**

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LA

ABSORCION DE AZUCARES POR INTESTINO

DELGADO DE RATA "IN VIVO"

Tesis presentada por la licenciada Dña.  
M<sup>a</sup> Pilar Vinardell Martinez-Hidalgo  
para optar al grado de Doctora en  
Farmacia.

Este trabajo ha sido dirigido por el  
Dr. D. José Bolufer Gonzalez, Catedrático  
de Fisiología Animal de la Facultad de  
Farmacia de la Universidad de Sevilla.

Barcelona, septiembre 1981

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0700083924

a mis padres

Mi más sincero agradecimiento,

al Profesor Dr. D. José Bolufer Gonzales, Catedrático de Fisiología Animal de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla, director de esta tesis por su constante dedicación y por haberme inculcado el interés por el tema durante su estancia entre nosotros en Barcelona,

al Profesor Dr. D. Antonio Torralba Rodriguez, Catedrático de Fisiología Animal de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona por haber aceptado ser el ponente de esta tesis y por su ayuda e interés en todo momento,

al Dr. Bargalló y demás miembros del Departamento de Microscopía electrónica de la Universidad Central de Barcelona por su ayuda en la realización del estudio electro-microscópico,

a todos y a cada uno de los compañeros del laboratorio por la paciencia que han tenido conmigo cuando he acudido a ellos en busca de asesoramiento.

## INDICE

	<u>Página</u>
1. OBJETO DEL TRABAJO.....	1
2. PARTE TEORICA.....	4
2.1. ESTRUCTURA DEL INTESTINO DELGADO.....	5
2.1.1. Morfología.....	5
2.1.2. Histología.....	8
2.1.3. Ultraestructura del enterocito....	13
2.2. ABSORCION INTESTINAL. MECANISMOS DE TRANSPORTE.....	23
2.2.1. Características de la absorción de azúcares.....	30
2.2.1.1. Influencia de la concentra- ción de sodio.....	37
2.2.1.2. Efecto del pH.....	41
2.2.1.3. Ritmo circadiano.....	42
2.2.1.4. Diferenciaciones con la zona intestinal.....	45
2.2.1.5. Enfluencia de la edad.....	47
2.2.2. Salida de azúcares.....	55

2.3. METODOS DE ESTUDIO DE LA ABSORCION	
INTESTINAL.....	57
2.3.1. Métodos "in vivo".....	57
2.3.1.1. Influencia de la velo-	
cidad de perfusión.....	62
2.3.1.2. Influencia de la capa	
no agitada.....	63
2.3.1.3. Expresión de los resul-	
tados.....	65
2.3.2. Métodos "in vitro".....	67
3. MATERIAL Y METODOS.....	74
3.1. Técnica "in vivo".....	75
3.1.1. Animal utilizado.....	75
3.1.1.1. Técnica operatoria.....	75
3.1.2. Productos utilizados.....	76
3.1.3. Sistema de perfusión "in vivo"....	78
3.1.3.1. Estudios de absorción.....	80
3.1.3.1.1. Cinética de la	
absorción.....	80
3.1.3.1.2. Efecto del ion	
sodio.....	81
3.1.3.2. Estudios de la secreción	
de azúcares.....	82

3.1.3.3. Medición de los cambios de volumen.....	82
3.1.4. Expresión de los resultados.....	83
3.2. Determinación del azúcar.....	86
3.2.1. Reactivos utilizados.....	86
3.2.2. Procedimiento.....	88
3.3. Determinación del ión sodio.....	89
3.4. Observaciones electromicroscópicas....	89
4. RESULTADOS.....	91
4.1. Influencia de la edad en la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata "in vivo".....	92
4.2. Influencia de la edad en la absorción de D-Glucosa por ileon de rata "in vivo".....	100
4.3. Influencia de la edad en la absorción de D-Galactosa por yeyuno de rata "in vivo".....	111
4.4. Influencia de la edad en la absorción de L-Arabinosa por yeyuno de rata "in vivo".....	111
4.5. Efecto de ion sodio sobre la absorción de D-Glucosa.....	121

4.5.1. Efecto del ion sodio sobre la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de diferentes edades.....	121
4.5.2. Efecto del ion sodio sobre la absorción de D-Glucosa por ileon de rata de diferentes edades.....	140
4.6. Determinación de la cantidad de sodio en el líquido de perfusión..	153
4.7. Efecto de 2,4,6-Triaminopirimidina (TAP) sobre la absorción intestinal de D-Glucosa.....	162
4.8. Salida de glucosa desde el plasma hacia el lumen intestinal.....	162
4.9. Morfología de los enterocitos de rata a distintas edades.....	167
5. DISCUSION .....	177
5.1. Influencia de la edad sobre la cinética de la absorción de D-Glucosa, D-Galactosa y L-Arabinosa...	180
5.2. Efecto del ion sodio sobre la absorción intestinal de D-Glucosa a distintas edades.....	184

5.3. Salida de sodio hacia el lumen intestinal en ratas de distintas edades.....	187
5.4. Efecto de 2,4,6-Triaminopirimidina (TAP) sobre la absorción intestinal de D-Glucosa.....	190
5.5. Salida de glucosa hacia el lumen intestinal.....	193
5.6. Morfología del epitelio intestinal de rata a diferentes edades.....	196
6. CONCLUSIONES.....	198
7. BIBLIOGRAFIA.....	202

INDICE DE TABLAS

Página

TABLA I: Edades de máxima absorción de azúcares encontradas por diversos autores.....	54
TABLA II: Absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de 21-23 días mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos y efecto de la floricina.....	93
TABLA III: Absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de 2-3 meses mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos y efecto de la floricina.....	95
TABLA IV: Absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de 18 meses mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos y efecto de la floricina.....	97
TABLA V: Componente de difusión de la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto....	101
TABLA VI: Absorción de D-Glucosa por ileon de rata de 21-23 días mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos y efecto de la floricina.....	102

TABLA VII: Absorción de D-Glucosa por ileon de rata de 2-3 meses mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos y efecto de la floricina. 104

TABLA VIII: Absorción de D-Glucosa por ileon de rata de 18 meses mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos y efecto de la floricina..... 106

TABLA IX: Componente de difusión de la absorción de D-Glucosa por ileon de rata mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto..... 109

TABLA X: Comparación entre las rectas de regresión representativas del componente de difusión de la absorción de D-Glucosa a diferentes edades "in vivo"..... 110

TABLA XI: Absorción de D-Galactosa por yeyuno de rata de 21-23 días mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos y efecto de la floricina.....112

TABLA XII: Absorción de D-Galactosa por yeyuno de rata de 2-3 meses mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos y efecto de la floricina.....114

TABLA XIII: Absorción de D-Galactosa por yeyuno de rata de 18 meses mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos y efecto de la floricina 116

TABLA XIV: Componente de difusión de la absorción de D-Galactosa por yeyuno de rata mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto..... 119

TABLA XV: Comparación entre las rectas de regresión representativas del componente de difusión de la absorción de D-Galactosa a diferentes edades por yeyuno de rata "in vivo"..... 120

TABLA XVI: Absorción de L-Arabinosa por yeyuno de rata de 21-23 días mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos.....122

TABLA XVII: Absorción de L-Arabinosa por yeyuno de rata de 2-3 meses mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos.....123

TABLA XVIII: Absorción de L-Arabinosa por yeyuno de rata de 18 meses mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto en períodos de 5 minutos.....124

TABLA XIX: Difusión de L-Arabinosa por yeyuno de rata mediante perfusión "in vivo" con circuito abierto.....	127
TABLA XX: Comparación entre las rectas de regresión representativas de la difusión de L-Arabinosa, a diferentes edades, por yeyuno de rata "in vivo".....	128
TABLA XXI: Influencia de la concentración de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa 10 mM por yeyuno de rata de 21-23 días.....	130
TABLA XXII: Influencia de la concentración de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa 10 mM por yeyuno de rata de 2-3 meses.....	132
TABLA XXIII: Influencia de la concentración de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa 10 mM por yeyuno de rata de 18 meses.....	134
TABLA XXIV: Porcentaje de inhibición de la absorción de D-Glucosa por descenso de la concentración luminal de sodio en yeyuno de rata..	136

TABLA XXV: Correlación entre la concentración de sodio en medio y la absorción de D-Glucosa 10 mM por yeyuno de rata mediante perfusión "in vivo" con circuito cerrado en períodos de 1 minuto.	138
TABLA XXVI: Efecto de la ausencia de sodio y de la ausencia de sodio y presencia de floridina sobre la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de distintas edades.....	139
TABLA XXVII: Influencia de la concentración de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa 10 mM por ileon de rata de 21-23 días.....	141
TABLA XXVIII: Influencia de la concentración de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa 10 mM por ileon de rata de 2-3 meses.....	143
TABLA XXIX: Influencia de la concentración de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa 10 mM por ileon de rata de 18 meses.....	145
TABLA XXX: Porcentaje de inhibición de la absorción de D-Glucosa por descenso de la concentración luminal de sodio en ileon de rata...	147

TABLA XXXI: Correlación entre la concentración de sodio en el medio y la absorción de D-Glucosa 10 mM por ileon de rata mediante perfusión "in vivo" con circuito cerrado en períodos de 1 minuto.....	149
TABLA XXXII: Comparación entre las rectas de regresión que relacionan la concentración de ion sodio en el medio con la absorción de D-Glucosa a diferentes edades, durante el primer minuto de perfusión "in vivo".....	150
TABLA XXXIII: Efecto de la ausencia de sodio y de la presencia de floricina sobre la absorción de D-Glucosa por ileon de rata de distintas edades.....	151
TABLA XXXIV: Porcentaje de inhibición de la absorción de D-Glucosa en ausencia de sodio y en ausencia de sodio y presencia de floricina en yeyuno e ileon de rata de distintas edades.....	152

TABLA XXXV; Concentraciones iniciales y finales de sodio tras perfusión de D-Glucosa 10 mM durante 20 minutos en ratas de 21-23 días con distintas cantidades iniciales de sodio en el medio.....	154
TABLA XXXVI: Concentraciones iniciales y finales de sodio tras perfusión de D-Glucosa 10 mM durante 20 minutos en ratas de 2-3 meses con distintas cantidades iniciales de sodio en el medio.....	155
TABLA XXXVII: Concentraciones iniciales y finales de sodio tras perfusión de D-Glucosa 10 mM durante 20 minutos en ratas de 18 meses con distintas cantidades iniciales de sodio en el medio.....	156
TABLA XXXXVIII: Salida de sodio hacia el lumen intestinal después de perfundir D-Glucosa 10 mM en ausencia de sodio en el medio durante 20 minutos en ratas de distintas edades.....	157
TABLA XII: Concentraciones iniciales y finales de sodio en el medio tras perfusión de D-Glucosa 10 mM durante 1 minuto en presencia y ausencia de sodio en ratas de 21-23 días.....	158

TABLA XL: Concentraciones iniciales y finales de sodio en el medio tras perfusión de D-Glucosa 10 mM durante 1 minuto en presencia y ausencia de sodio en ratas de 2-3 meses.....	159
TABLA XLI: Concentraciones iniciales y finales de sodio en el medio tras perfusión de D-Glucosa 10 mM durante 1 minuto en presencia y ausencia de sodio en ratas de 18 meses.....	160
TABLA XLII: Salida de sodio desde el plasma al lumen intestinal en ausencia de sodio y en presencia de floricina en el medio tras perfusión de D-Glucosa 10 mM durante 1 minuto en circuito abierto en ratas de distintas edades.....	161
TABLA XLIII: Efecto de 2,4,6-Triaminopirimidina (TAP) 20 mM sobre la difusión de D-Glucosa 20 mM en ratas de 2-3 meses..	163
TABLA XLIV: Salida de glucosa hacia el lumen intestinal después de perfundir suero fisiológico a 3,5 ml/min. durante 30 minutos en ratas de 2-3 meses y efecto de la floricina añadida al líquido de perfusión.....	165

TABLA XLV: Longitud de las microvellosidades  
de enterocito de intestino delgado  
de rata de distintas edades.....

## INDICE DE FIGURAS

	<u>Página</u>
Fig. 1. Morfología del intestino delgado.....	7
Fig. 2. Esquema de una cripta de la mucosa intestinal.....	11
Fig. 3. Esquema de un enterocito según TRIER y RUBIN (1965).....	14
Fig. 4. Distribución de las uniones en el epitelio del intestino delgado.....	19
Fig. 5. Modelo de complejo ternario propuesto por CRANE (1960).....	28
Fig. 6. Modelo de transporte de sustratos asociado al de sodio a través de la mucosa intestinal	43
Fig. 7. Esquema del sistema de perfusión "in vivo"..	79
Fig. 8. Correlación entre la superficie del asa intestinal y su peso seco en yeyuno de rata..	84
Fig. 9. Correlación entre la superficie del asa intestinal y su peso seco en ileon de rata...	85
Fig.10. Cinética de la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de 21-23 días "in vivo".....	94

Fig. 11: Cinética de la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de 2-3 meses "in vivo"...	96
Fig. 12: Cinética de la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de 18 meses, "in vivo"...	98
Fig. 13: Absorción total de D-Glucosa por yeyuno de rata de diferentes edades.....	99
Fig. 14: Cinética de la absorción de D-Glucosa por ileon de rata de 21-23 días, "in vivo"..	103
Fig. 15: Cinética de la absorción de D-Glucosa por ileon de rata de 2-3 meses, "in vivo"...	105
Fig. 16: Cinética de la absorción de D-Glucosa por ileon de rata de 18 meses, "in vivo"....	107
Fig. 17: Absorción total de D-Glucosa por ileon de rata de diferentes edades.....	108
Fig. 18: Cinética de la absorción de D-Galactosa por yeyuno de rata de 21-23 días, "in vivo"..	113
Fig. 19: Cinética de la absorción de D-Galactosa por yeyuno de rata de 2-3 meses, "in vivo"...	115
Fig. 20: Cinética de la absorción de D-Galactosa por yeyuno de rata de 18 meses, "in vivo"....	117
Fig. 21: Absorción total de D-Galactosa por yeyuno de rata de diferentes edades.....	118
Fig. 22: Absorción de L-Arabinosa por yeyuno de rata de diferentes edades.....	125

Fig. 23: Cinética de la absorción de L-Arabinosa por yeyuno de rata "in vivo".....	126
Fig.24: Efecto de la disminución de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de 21-23 días "in vivo".....	131
Fig. 25:Efecto de la disminución de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de 2-3 meses "in vivo".....	133
Fig. 26:Efecto de la disminución de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata de 18 meses "in vivo".....	135
Fig. 27:Correlación entre la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata "in vivo" y la concentración de sodio en el medio de perfusión.....	137
Fig. 28:Efecto de la disminución de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa por ileon de rata de 21-23 días "in vivo".....	142
Fig. 29:Efecto de la disminución de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa por ileon de rata de 2-3 meses "in vivo".....	144

Fig. 30: Efecto de la disminución de sodio en el medio de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa por ileon de rata de 18 meses "in vivo".....	146
Fig. 31: Correlación entre la absorción de D-Glucosa por ileon de rata "in vivo" y la concentración de sodio en el medio de perfusión.....	148
Fig. 32: Efecto de 2,4,6-Triaminopirimidina (TAP) 20 mM sobre la difusión de D-Glucosa 20 mM en ratas de 2-3 meses.....	164
Fig. 33: Salida de glucosa hacia el lumen intestinal después de perfundir suero fisiológico durante 30 minutos en ratas de 2-3 meses y efecto de la floricina.....	166

## INDICE DE FOTOGRAFIAS

Página

- Fot. 1: Microscopía electrónica de un enterocito de yeyuno de rata de 18 meses..... 15
- Fot. 2: Microscopía electrónica de la unión entre enterocitos de yeyuno de rata de rata de 18 meses..... 18
- Fot. 3: Microscopía electrónica de un desmosoma puntiforme de yeyuno de rata de 2-3 meses 22
- Fot. 4: Microscopía electrónica de las microvellosidades de yeyuno de rata de 21-23 días..... 168
- Fot. 5: Microscopía electrónica de las microvellosidades de ileon de rata de 21-23 días..... 169
- Fot. 6: Microscopía electrónica de las microvellosidades de ileon de rata de 21-23 días..... 170
- Fot. 7: Microscopía electrónica de las microvellosidades de yeyuno de rata de 2-3 meses..... 171

Fot. 8: Microscopía electrónica de un corte transversal de las microvellosidades de yeyuno de rata de 2-3 meses.....	172
Fot. 9: Microscopía electrónica de las microvellosidades de ileon de rata de 2-3 meses.....	173
Fot. 10: Microscopía electrónica de las microvellosidades de yeyuno de rata de 18 meses y de un corte transversal de las mismas.....	174
Fot. 11: Microscopía electrónica de las microvellosidades de ileon de rata de 18 meses y de un corte transversal de las mismas.....	175

## 1. OBJETO DEL TRABAJO

La absorción intestinal de no electrolitos se realiza mediante mecanismos de transporte activos y pasivos. Durante mucho tiempo se ha venido prestando especial atención a los mecanismos de transporte activo, utilizando sobre todo, técnicas "in vitro", cada día más sofisticadas. Sin embargo, sólo en los últimos años se ha empezado a estudiar la participación cuantitativa de ambos tipos de mecanismos en la absorción "in vivo", utilizando animales adultos.

Dado que, a lo largo del crecimiento, se producen cambios morfológicos y fisiológicos en los animales, nos ha parecido interesante estudiar la participación de los distintos mecanismos en la absorción de azúcares por animales de diferentes edades, tanto en el yeyuno como en el ileon, así como la influencia de la concentración de sodio en el medio de perfusión, intentando establecer, si lo hay, distinto papel en la fisiología de la absorción de dichos tramos intestinales.

Otro punto interesante, objeto de nuestro trabajo, era el estudiar si el sustrato que se absorbe por mecanismos

pasivos, lo hace exclusiva o principalmente por ruta transcelular o si en parte por ruta paracelular a través de las uniones estrechas.

Por último, y dado que la absorción es un fenómeno de superficie, se estudiará la morfología de las microvellosidades intestinales del yeyuno e ileon de los animales utilizados.

## 2. PARTE TEORICA

## 2.1. ESTRUCTURA DEL INTESTINO DELGADO

### 2.1.1. MORFOLOGIA

El paso de sustancias desde el intestino a la sangre, denominado absorción, se debe a la existencia de fuerzas fisicoquímicas, pero también intervienen fenómenos selectivos que tienen su origen en la actividad específica de la célula del intestino.

El intestino delgado abarca desde el píloro hasta la extremidad proximal del intestino grueso en la válvula ileocecal, dividiéndose en tres tramos, que en dirección caudal se denominan : duodeno, yeyuno e ileon. El duodeno, denominado a veces casquete o bulbo duodenal, tiene su comienzo en la válvula pilórica terminando poco después del punto en que vierten sus secreciones el hígado y el pancreas y tiene forma de herradura alrededor de la cabeza del pancreas, siendo la porción del intestino que recibe el impacto del contenido ácido del estómago. La unión del duodeno con el intestino grueso recibe el nombre de ligamento de Treitz y a partir de este punto se inicia el yeyuno que representa los dos quintos de la longitud del intestino delgado y los últimos tres quintos corresponden al ileon, sin que

exista una frontera anatómica definida entre los dos puntos. La válvula ileocecal marca el punto donde el ileon termina en el colon.

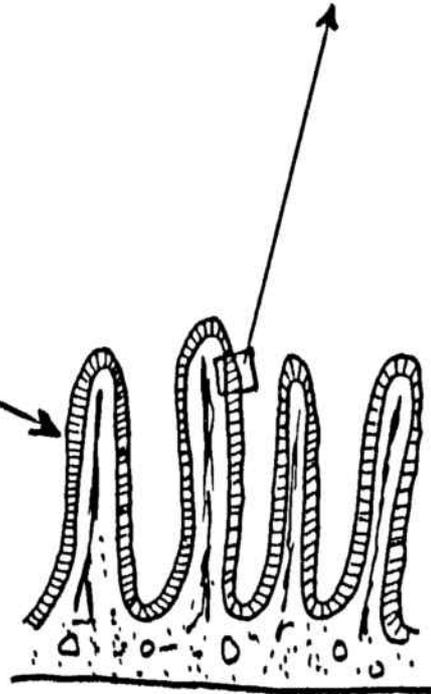
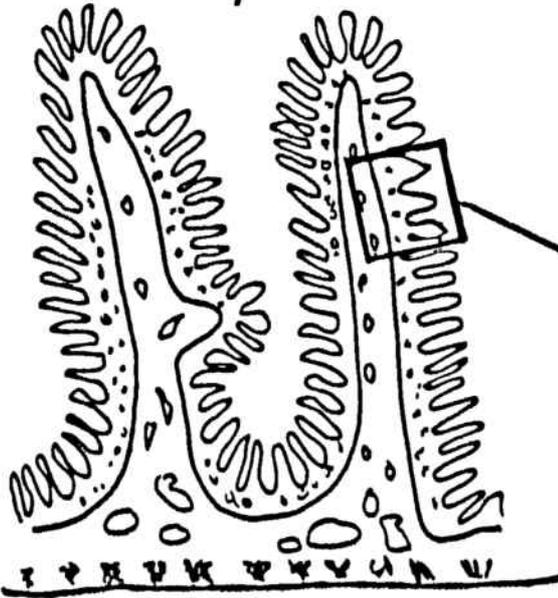
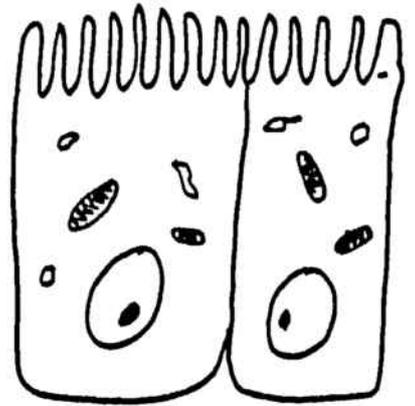
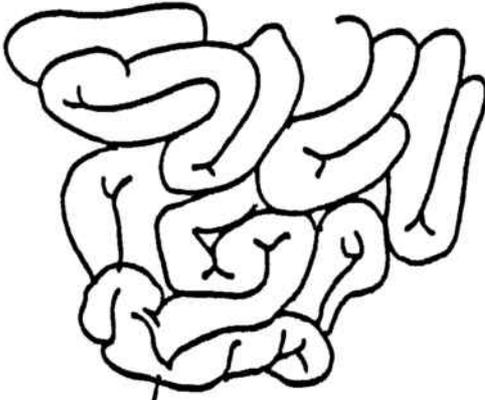
Para llevar a cabo la absorción, el intestino delgado presenta una estructura anatómica especializada que facilita la misma. La absorción requiere una amplia superficie epitelial, ya que es a través del epitelio de la mucosa que está función tendrá lugar. La longitud del intestino delgado ayuda a lograr dicha superficie pero necesita aún mayor area que se consigue mediante unos pliegues circulares denominados válvulas conni-ventes o de KERCKRINE que se extienden circularmente sobre toda la superficie interna del intestino delgado. A su vez, la superficie de la mucosa que recubre los pliegues y la situada entre los mismos presenta pequeñas proyecciones llamadas vellosidades intestinales. Finalmente la superficie de absorción alcanza un máximo gracias a la presencia de microvellosidades en las superficies libres de la células encargadas de realizar la absorción. (Fig.1).

FIGURA 1

MORFOLOGIA DEL INTESTINO DELGADO

intestino delgado

enterocitos



válvulas conniventes

vellosidades

### 2.1.2. HISTOLOGIA

Desde el punto de vista histológico, la pared intestinal está constituida por cuatro capas desde dentro hacia el lumen: serosa, muscular, submucosa y mucosa.

La serosa es una membrana de tejido conectivo que se continua con el mesenterio y que recubre la cavidad abdominal. El mesenterio está constituido por una membrana de tejido conectivo unido a la línea media de la pared abdominal que sirve de soporte de los intestinos, entre las dos capas de mesenterio pasan los vasos sanguíneos, linfáticos y nervios.

La muscular consta de dos capas de musculatura lisa, una capa exterior de fibras longitudinales y otra interior de fibras circulares, entre las dos capas hay muchas células ganglionares y una red de fibras nerviosas, el plexo mientérico de Auerbach, que consta de fibras derivadas de nervios simpáticos y parasimpáticos y contiene las terminales de estos últimos.

La submucosa formada por tejido conjuntivo laxo. Los vasos sanguíneos mayores penetran desde el mesenterio, se

subdividen y forman un rico plexo vascular que emite ramificaciones, las cuales penetran en la mucosa. Dicho plexo se denomina de Meissner y está compuesto de fibras simpáticas postganglionares, junto con algunos ganglios que constituyen probablemente terminales de nervios parasimpáticos y glándulas de Brunner secretoras de mucina alcalina que contiene el presursor de un enzima que actúa específicamente sobre los enlaces peptídicos en que interviene la lisina, siendo activado por el ácido clorhídrico.

La mucosa consta de tres capas: epitelial, lámina propia y la muscularis mucosae. La lámina propia está constituida por tejido conjuntivo con colágeno, fibras reticulares y elásticas y una considerable proporción de tejido linfático que puede estar distribuido difusamente o agrupado en masas linfoides definidas; intercalado con estos tejidos está el tejido glandular del epitelio.

Muchas de las células epiteliales están adaptadas a funciones especiales; algunas están destinadas a la absorción y tienen microvellosidades, otras son secretoras y contienen gránulos o se presentan en forma de células caliciformes, también hay células enterocromafines que contienen 5-hidroxitriptamina.

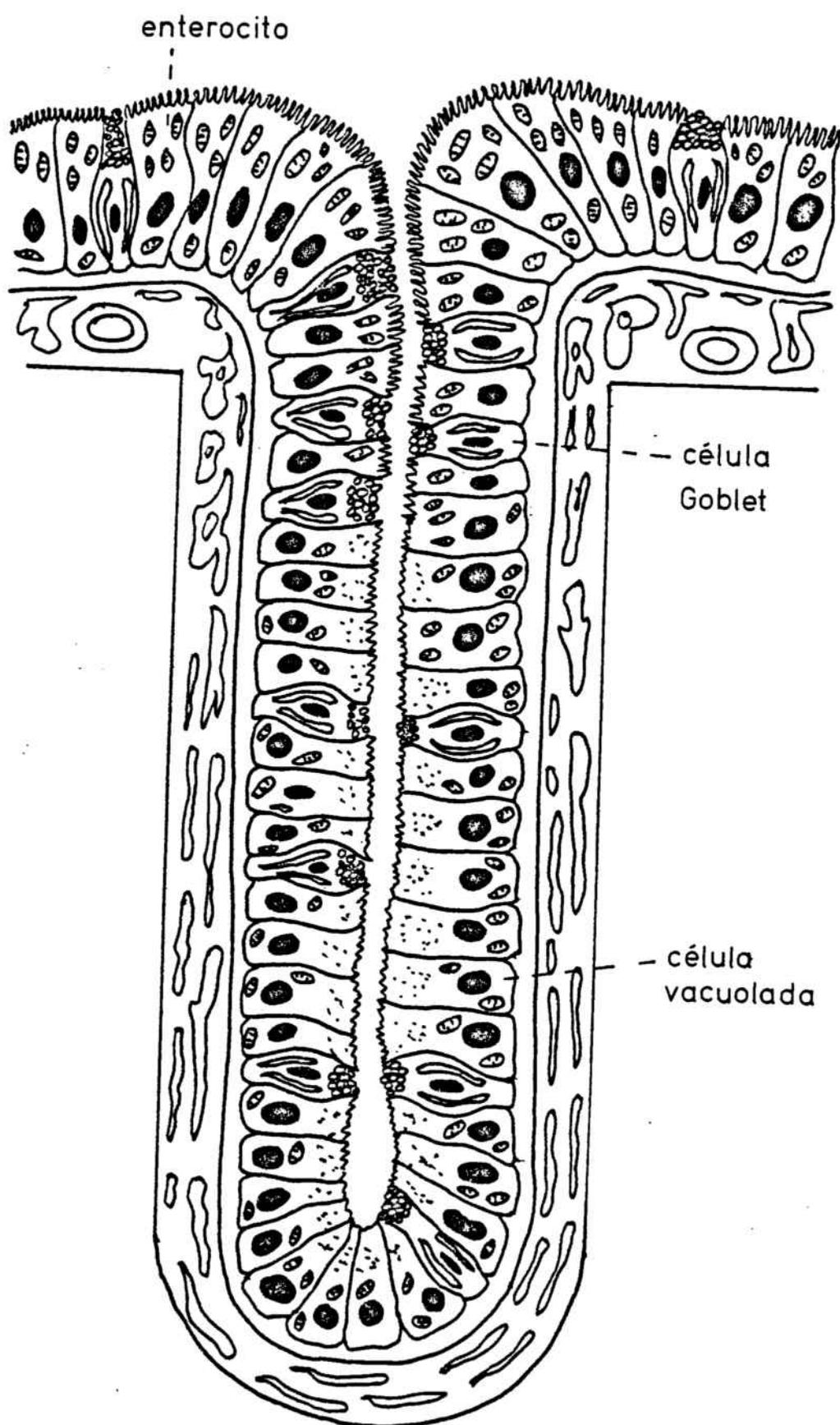
Casi toda la superficie del intestino delgado está cubierta por millones de pequeñas vellosidades (superficie de la válvula connivente). La altura de las vellosidades es de 0,5 a 1,5 mm, encontrándose cerca de 10 a 40 por  $\text{mm}^2$ . Es en la primera porción del intestino delgado donde están más próximas y luego están más espaciadas, aumentando diez veces la superficie de absorción.

En las vellosidades constituye una gran ventaja la disposición del sistema vascular para la absorción por vía sanguínea y la del quilífero central para la absorción por vía linfática. Entre las vellosidades están las criptas de Lieberkühn que penetran unos 0,5 mm dentro de la submucosa, las células del fondo de la cripta o células Paneth están repletas de una masa densa de gránulos secretorios acidófilos y también hay algunas células caliciformes.

El epitelio de las vellosidades se caracteriza por ser dinámico, así los distintos tipos de células que lo constituyen provienen de una célula madre o célula cilíndrica situada en la base de la cripta y debido a su gran capacidad mitótica da origen a los cuatro tipos celulares de las vellosidades. Las células Paneth no abando-

FIGURA 2

ESQUEMA DE UNA CRIPTA DE LA MUCOSA INTESTINAL



enterocito

- - célula  
Goblet

- célula  
vacuolada

nan la base de la cripta, mientras que las otras emigran hacia las puntas de las vellosidades o villi.

La base de las criptas está constituida por un número aproximadamente igual de células cilíndricas y células Paneth intercaladas, además de un número menor de células enterocromafines y células en copa o Goblet.

Las células cilíndricas de la cripta tienen poco citoplasma, presentando pocas mitocondrias y un pequeño aparato de Golgi, pero están llenas de ribosomas libres lo que indica que se encuentran en un estado relativamente indiferenciado y con gran intensidad de división.

Por su parte, las células Paneth presentan muy desarrollado el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi, distinguiéndose histológicamente por su citoplasma basófilo y sus grandes gránulos intracitoplasmáticos. No suelen observarse en estado mitótico y en raras ocasiones se extienden hacia las paredes laterales de la cripta, constituyendo células secretoras de mucus y de enzimas tipo peptidasas y lipasas.

Las células enterocromafines representan aproximadamente el 1% de las células de las criptas, con un vértice

estrecho y una zona basal repleta de gránulos densos, siendo algunas productoras de serotonina y de hormonas intestinales como la colecistocinina.

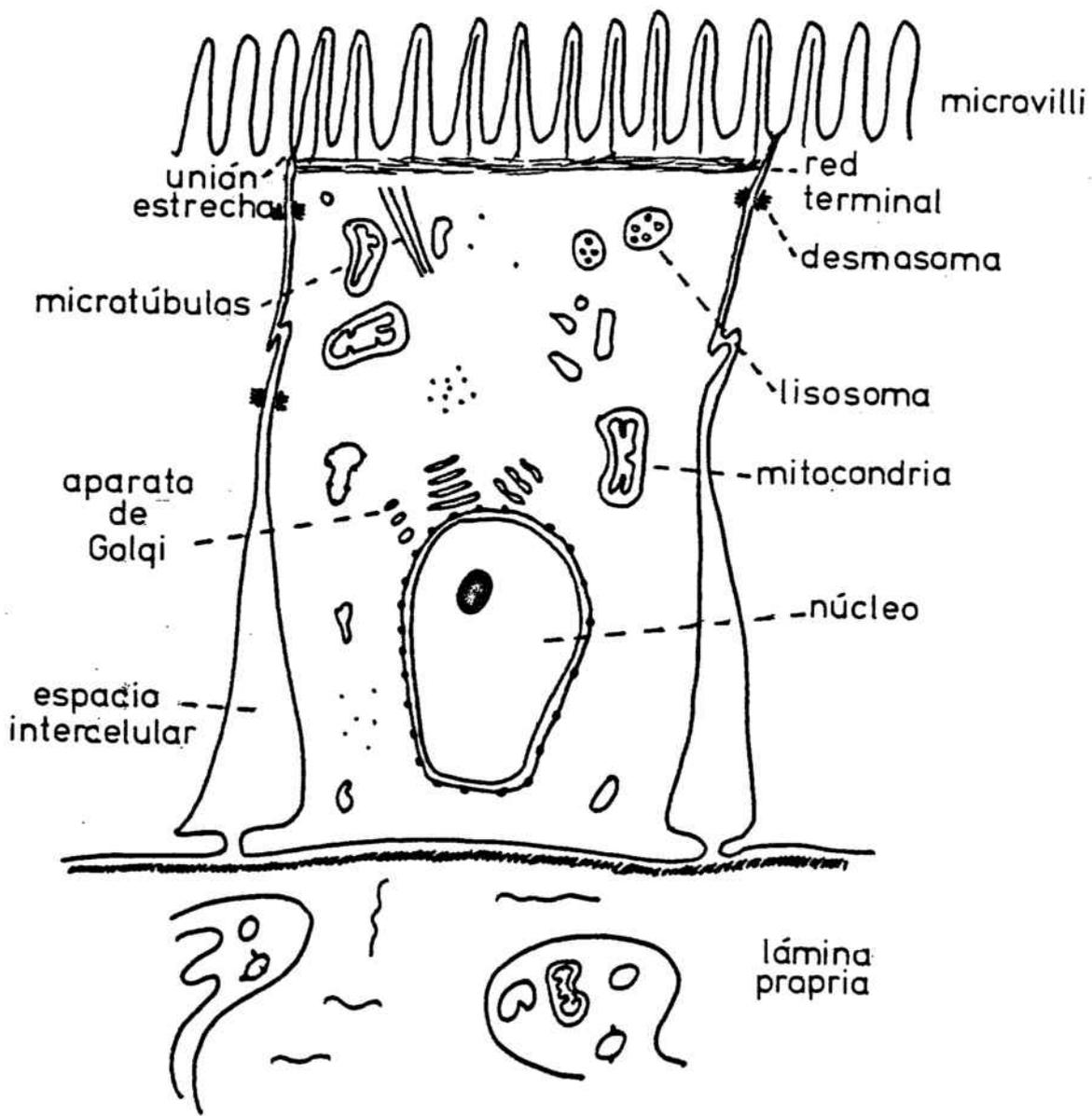
Las células Goblet o en copa estan distribuidas en las criptas y en los villi, tienen una función secretora de mucus y contienen numerosas vacuolas y el núcleo está situado en su parte basal (HAM 1977).

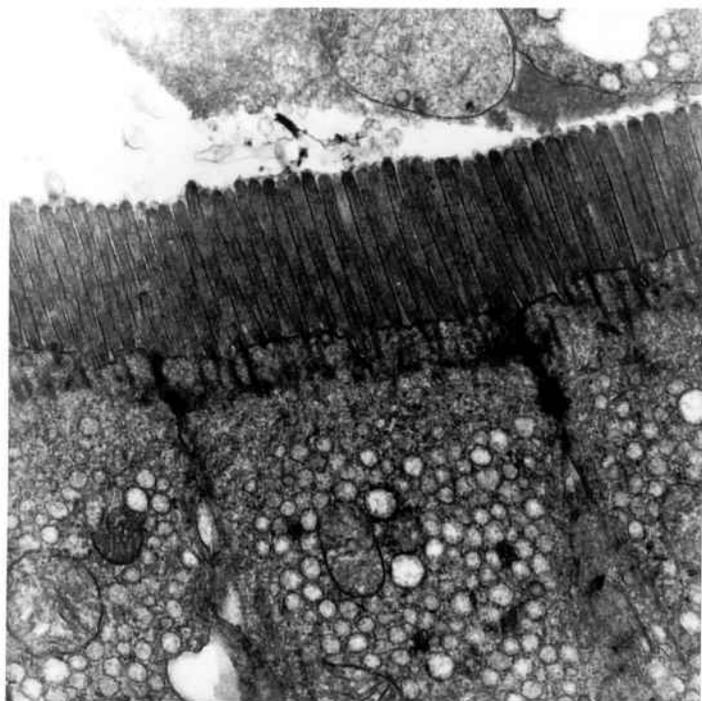
### 2.1.3. ULTRAESTRUCTURA DEL ENTEROCITO

En los villi el 90% de las células son enterocitos o células absorbentes, cilíndricas y altas, con un grueso borde en cepillo constituido por múltiples microvellosidades con una longitud media de 0,75-1,5 nm (CURRAN 1963, HAUBRICH 1959, SHEARMAN 1962), con lo que se aumenta la superficie absorbente de la célula de 14 a 30 veces. Estudios inmunoquímicos han permitido localizar disacaridasas en el borde en cepillo (DOELL 1965). El citoplasma de estas células es abundante y con muchas mitocondrias cerca del borde en cepillo, presentando un retículo endoplásmico rugoso y un aparato de Golgi bien desarrollado cuando dichas células se hallan en la base de las vellosidades, pero a medida que se aproximan a la punta de la vellosidad se va haciendo

FIGURA 3

ESQUEMA DE UN ENTEROCITO SEGUN TRIER Y RUBIN (1965).





FOTOGRAFIA 1

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE UN ENTEROCITO DE  
YEYUNO DE RATA DE 18 MESES. SE MUESTRAN TRES  
ENTEROCITOS CON SUS MICROVELLOSIDADES Y LAS  
UNIONES INTERCELULARES (X 17.430)

menos manifiesto.

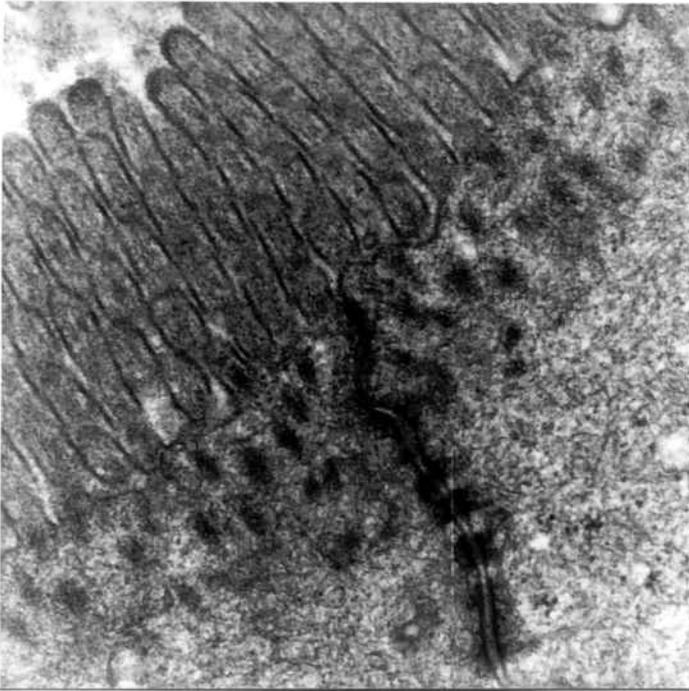
Las uniones intercelulares desempeñan un papel de particular importancia en los tejidos epiteliales que recubren la superficie del cuerpo y revisten sus cavidades. Así las células epiteliales del intestino delgado absorben selectivamente los nutrientes y los transportan a través de su citoplasma para poder penetrar en el torrente circulatorio. Este sistema de transporte sería francamente ineficaz si los nutrientes absorbidos por las células fueran de nuevo filtrados hacia la luz intestinal por los espacios intercelulares y así se impide el paso de moléculas a través del epitelio gracias a las denominadas uniones estrechas o herméticas que fueron descritas por primera vez por FARQUHAR en 1963, denominándolas "zonulas occludens".

En la región correspondiente a una unión estrecha las membranas plasmáticas de dos células epiteliales adyacentes parecen fusionarse formando una región de íntimo contacto que constituye un aro que ciñe a cada célula. Estas uniones se caracterizan por una red de crestas en la cara de media membrana citoplasmática y otra de hoyos complementarios en la cara de la media membrana externa. Las crestas de la unión estrecha

están compuestas por dos filas de partículas fuertemente unidas contribuyendo cada una de las membranas plasmáticas adyacentes con la aportación de una fila de estas partículas. Estas filas de partículas entran en contacto mutuo, frente a frente, como si se formara una cremallera modificada que mantiene tan próximas las dos membranas que el espacio intercelular se halla obliterado. En consecuencia, las partículas forman líneas de unión (hebras de cierre) que bloquean físicamente el paso de moléculas a través del epitelio. En el intestino delgado existe una red poligonal de interconexiones regulares.

La adherencia de las células se mantiene mediante uniones de conjunción denominadas desmosomas existiendo dos tipos: de banda y puntiformes. El desmosoma de banda forma una franja que une a las células epiteliales adyacentes en la región inmediatamente inferior a la unión estrecha. En esta zona de unión el espacio intercelular está lleno de un material filamentoso fino. Los filamentos asociados con el desmosoma de banda tienen unos 70 Å de diámetro.

Los desmosomas puntiformes descubiertos en 1954 por PORTER constituyen puntos de contacto en forma de botón



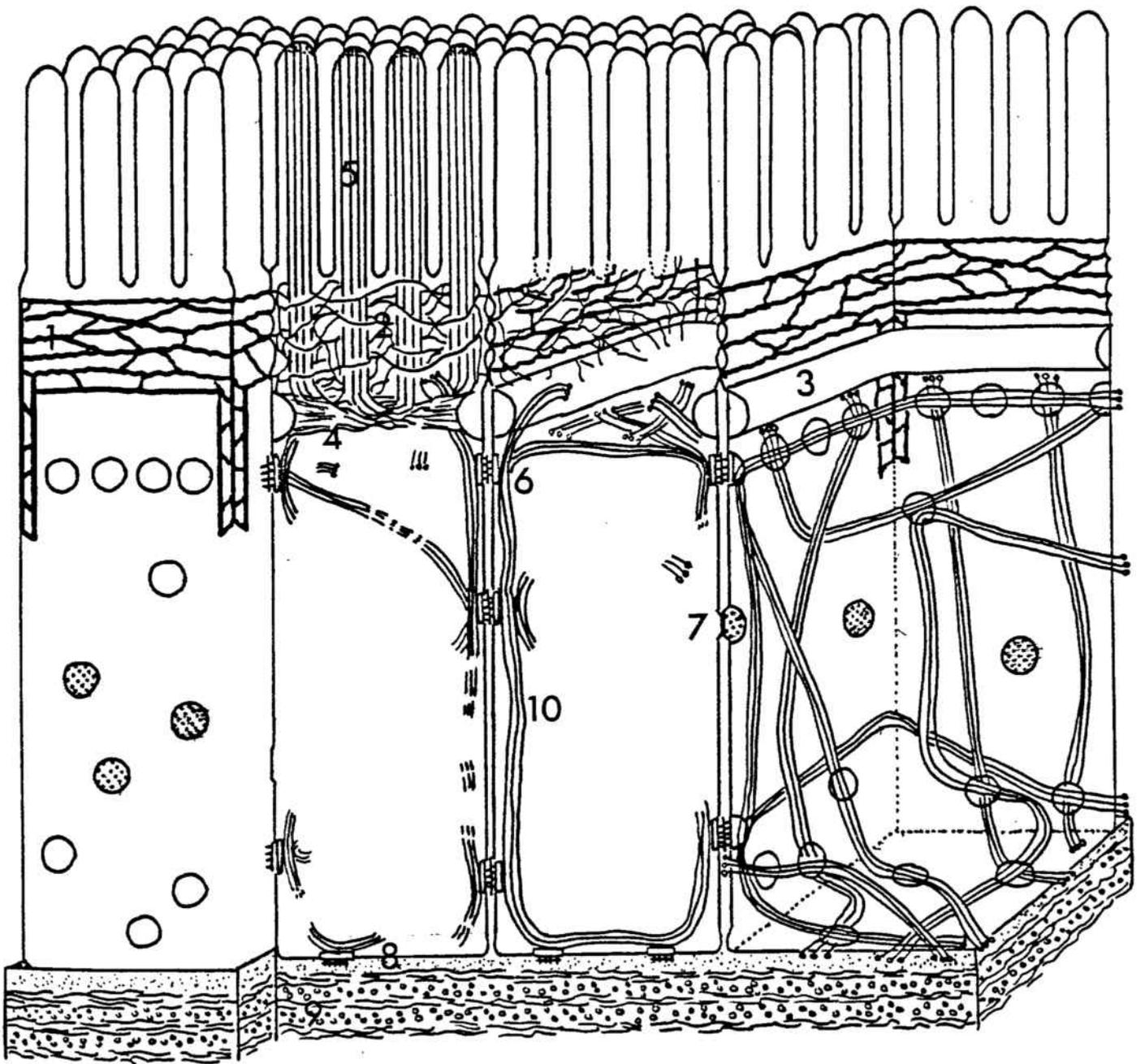
FOTOGRAFIA 2

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE UNA UNION ENTRE  
ENTEROCITOS DE YEYUNO DE RATA DE RATA DE  
18 MESES MOSTRANDOSE VARIOS DESMOSOMAS  
(X 44.200)

FIGURA 4

DISTRIBUCION DE LAS UNIONES EN EL EPITELIO  
DEL INTESTINO DELGADO.

1. unión estrecha o hermética
2. filamentos finos
3. desmosomas de banda
4. red terminal o de adherencia
5. microfilamentos centrales
6. desmosomas puntiformes
7. uniones con hendidura
8. hemidesmosomas
9. tejido conectivo
10. tonofilamentos



entre las membranas plasmáticas de las células adyacentes de distintos niveles. En el interior del desmosoma puntiforme las dos membranas celulares adyacentes son estrictamente paralelas y están separadas por un espacio de 300 Å de anchura relleno de material filamentoso. En la superficie plasmática hay una placa en forma de disco a la que se hallan conectados unos filamentos de 100 Å de diámetro denominados tonofilamentos que forman un armazón estructural que resiste bien la tensión. Hay un manojo de tonofilamentos que se originan en la profundidad del citoplasma y que forman un bucle al atravesar las placas de los desmosomas puntiformes y otros pasan paralelos a la placa. Hay filamentos más finos que surgen de las propias placas y se prolongan desde la célula hacia el espacio intercelular donde entran en conexión con el estrato central en una disposición alterna (FARQUHAR 1963, FAWCETT 1962).

Otro tipo de uniones son las uniones en hendidura que presentan unas características estructurales propias, así se ha visto que el espacio intercelular se estrecha de su anchura normal, que son unos 250 Å hasta unos 30 Å constituyendo puntos de unión de baja resistencia eléctrica que permiten que pase el cambio de voltaje de unas células a otras y son las que sincronizan las contrac-

ciones de las células de músculo liso responsables de los movimientos peristálticos del intestino. Estas uniones están constituidas por seis subunidades de naturaleza proteica en forma de palanqueta que se reúnen formando una estructura cilíndrica de unos 70 Å de diámetro con una simetría hexagonal y un canal central (STAEHELIN 1978).

Los hemidesmosomas o semidesmosomas constituyen uniones adherentes que sirven como lugares de anclaje de los manojos de tonofilamentos pero no unen células adyacentes sino células epiteliales individuales con la matriz del tejido conectivo subyacente, impidiendo así que se separen las dos capas (Fig. 4)

Parece ser que la principal función de la red terminal en los enterocitos es estabilizar la superficie de la célula (PALAY 1959a, 1959b) y esto se demuestra por su capacidad de resistir fuerzas mecánicas y osmóticas (MILLER 1961).

La diferenciación en células absorbentes tarda de 36 a 72 horas en la rata (LEBLOND 1958). Esta diferenciación se acompaña de la adquisición de una polaridad tal que el borde en cepillo en el extremo apical se expone



FOTOGRAFIA 3

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE UN DESMOSOMA  
PUNTIFORME DE YEYUNO DE RATA DE 2-3 MESES

( x 82.560)

al medio externo del lumen, mientras que los lados lateral y basal quedan en contacto con el compartimiento serosal. Esta polaridad tiene consecuencias fisiológicas importantes expresadas por sus características (proceso digestivo y transporte) y se han observado algunas modificaciones en la composición de las diferentes áreas de las células (FORSTNER 1973, GLICKMAN 1976).

## 2.2. ABSORCIÓN INTESTINAL.MECANISMOS DE TRANSPORTE

Las membranas celulares poseen unos mecanismos de transporte que son capaces de impulsar, a través de ellas, el paso de solutos necesarios para las mismas. Dichos mecanismos pueden ser de dos tipos según haya interacción química o no con la membrana. Así se denominan "no mediados" a aquellos mecanismos en los que no se produce una interacción química, como es el caso de la difusión simple y "mediados" cuando si se produce una interacción. Estos últimos a su vez pueden ser de dos tipos: mecanismo acelerativo, cuando el soluto se mueve a favor de un gradiente de concentración, es la denominada difusión facilitada y el mecanismo concentrativo cuando el soluto se mueve en contra de un gradiente de concentración, necesitando para ello un aporte energético y se conoce como transporte activo.

En la difusión simple el soluto mantiene durante y después del proceso la forma molecular inicial y la velocidad del mismo depende, en todo momento, de la concentración de sustrato en el punto de absorción.

El transporte activo se produce cuando una sustancia se mueve en contra de un gradiente químico o electroquímico y explica la capacidad de muchas células de poder acumular determinadas sustancias en su citoplasma, a una concentración más elevada que la presente en el medio externo.

Para que se produzca el transporte activo es necesario que se cumplan determinadas condiciones, así se ha comprobado que las características de este tipo de transporte son:

1. Depende de un acoplamiento de energía, siendo por definición un proceso endergónico y requiere, por evidentes consideraciones termodinámicas energía celular para que tenga lugar.
2. Es altamente específico, precisando los sustratos una determinada configuración molecular.

3. Presenta una cinética de saturación y se inhibe por la presencia de sustratos que actúan a nivel de membrana.

4. Se establece competencia entre sustratos análogos y que son transportados activamente.

5. Utiliza áreas determinadas de la membrana.

Ya desde antiguo se postularon varias teorías para explicar como se producía este transporte y antes de la aparición de las modernas teorías se postulaba la "hipótesis de la fosforilación", según la cual la fuerza que permite la absorción activa se atribuía a la fosforilación y posterior defosforilación del azúcar. Esta hipótesis fue sugerida primero por LUNDSGAARD (1933) pero fue abandonada posteriormente debido a las discrepancias observadas en cuanto al efecto inhibitorio de la floricina en la absorción de azúcares y la fosforilación (LUNDSGAARD 1935).

La idea de nuevo fue puesta en vigor por VERZAR (1936) como consecuencia de los resultados obtenidos con iodoacetato que inhibe junto con la absorción de azúcares, la de los esteres fosforilados. Los estudios de BECK (1942), KJERULF-JENSEN (1942), LASTZ (1935) VERZAR (1937)

sobre la acumulación de ésteres fosfatados durante la absorción y los de GOMORI (1941) que mostraban una localización apropiada en la célula de fosfatasas, parecen reforzar la hipótesis. Esta teoría fue posteriormente modernizada por DRAKIN (1948) que indicó que la fosforilación estaba catalizada por la hexoquinasa y la defosforilación por la glucosa-6-fosfatasa.

En seguida surgieron objeciones a esta hipótesis, así WESTENBRINK (1936) y KLINGHOFFER (1938) se basan en la inhibición específica por iodoacetato, DAVISON (1940) muestra la irrealidad de las conclusiones basándose en la distinta tasa de absorción entre la glucosa y la xilosa, SHAPIRO (1947) habla de la falta de especificidad de la floricina a altas concentraciones.

BENNETT(1956) propuso una variante de pinocitosis para el transporte activo. El fenómeno se da en el yeyuno e ileon de ratas y ratones recién nacidos (CLARK 1959) que pueden absorber mediante este mecanismo anticuerpos (HALLIDAY 1959) y otras proteínas (CLARK 1959). Este fenómeno no se da cuando se alcanza la edad adulta (CLARK 1959, DEMIS 1954) y se hubo de abandonar la hipótesis para explicar el transporte activo.

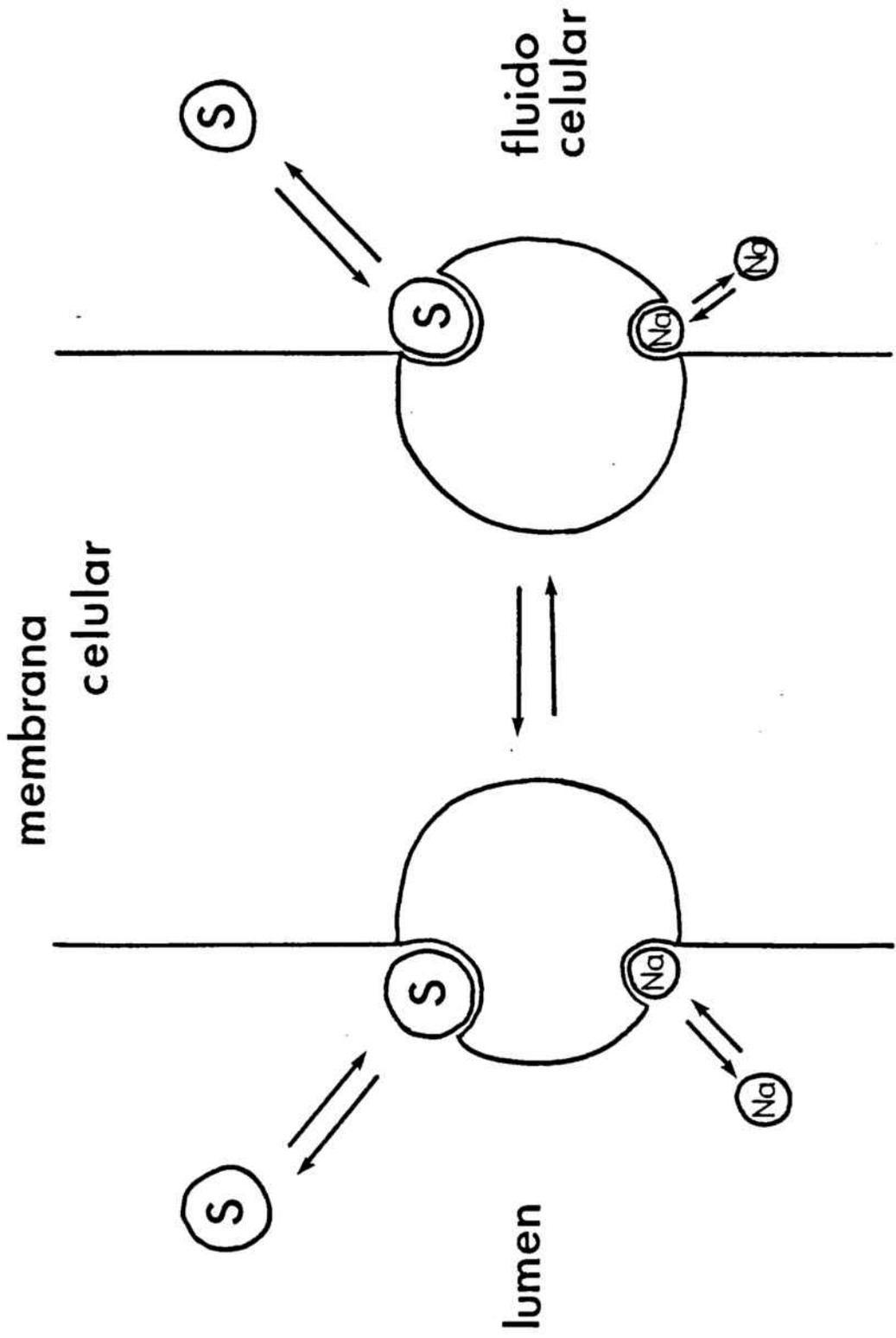
Se han propuesto varias alternativas para explicar el fenómeno pero ninguna de ellas ha alcanzado preponderancia, se ha hablado de la existencia de poros (BURGEN 1957, DANIELLI 1954a,b , STEIN 1956), enzimas trasladadoras (MORRISON 1939), proteínas contráctiles específicas (GOLDACRE 1952), entre otras teorías.

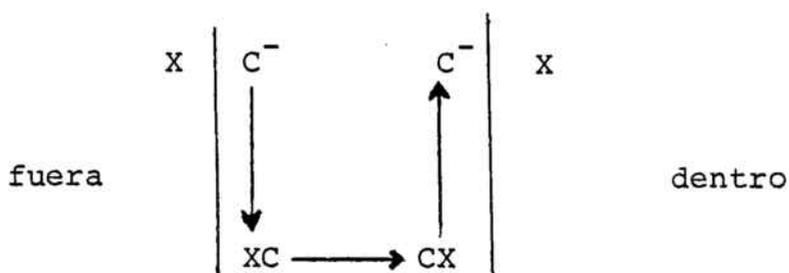
Lo que parece más acertado es la existencia de un transportador en la membrana que se uniría al sustrato y así podría éste atravesar la membrana apareciendo en el interior de la célula (CRANE 1960).

Se han postulado distintos tipos de transportador o "carrier" según la denominación anglosajona, así tenemos que USSING (1955) supone que el transportador está cargado electricamente y sirve para sustancia cargadas y así mismo también supone que el transportador al quedar libre se uniría a otra sustancia y que sólo el transportador lleno es capaz de atravesar la membrana. Este modelo sólo serviría para explicar la absorción de electrolitos.

FIGURA 5

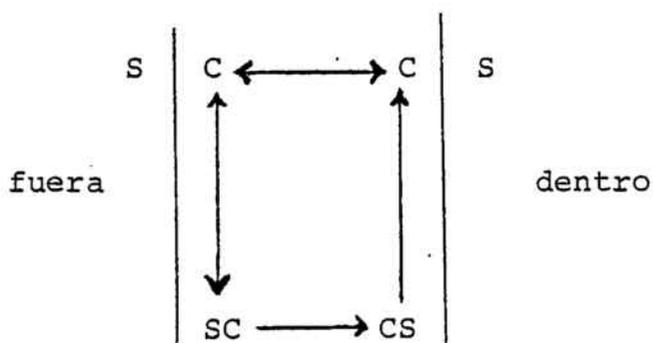
MODELO DE COMPLEJO TERNARIO PROPUESTO POR CRANE (1960)





X sustrato cargado  
 C<sup>-</sup> transportador o "carrier"  
 CX complejo sustrato-  
 transportador

WIDDAS (1954) supuso que tanto el transportador vacío como el lleno podían atravesar la membrana. Este tipo de transportador se definió para el paso de azúcares a los glóbulos rojos, pero se adaptó a otras zonas del cuerpo.



En el transporte energizado se crea una asimetría a los dos lados de la membrana, siendo necesario un acoplamiento de energía. ROSEMBERG (1954) postuló que las

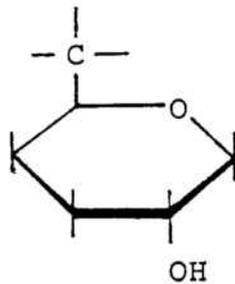
fuerzas no han de aplicarse sobre el transportador, pudiendo hacerlo a otro mecanismo que cree una asimetría, así la teoría de CRANE (1960) supone dicho acoplamiento al ion sodio. En el modelo cinético propuesto por este autor el transportador formaría un complejo ternario, al unirse al sustrato y al sodio y sus constantes de disociación dependerían de las concentraciones respectivas de sustrato y de ion sodio en el exterior y en el interior de la membrana. La bomba de sodio se sitúa en el borde en cepillo, y no en la membrana basolateral pues no se conocía exactamente donde se localizaba. En el modelo básico mientras funcione la bomba de sodio, se mantendrá un gradiente electroquímico transmembrana para este ión y el estado final reflejará este gradiente. El nivel del estado estacionario dependerá de la concentración de sodio en el exterior, de la velocidad a la cual el sodio que entra es lanzado al exterior por la bomba iónica y de la concentración de sodio en el interior.

#### 2.2.1. CARACTERISTICAS DE LA ABSORCION DE AZUCARES

CORI (1925) y VERZAR (1936) dividieron los azúcares en dos clases según la tasa de absorción y la influencia

sobre esta tasa de modificaciones en la concentración luminal. CORI (1925) los ordena atendiendo a la velocidad de absorción en : galactosa glucosa manosa fructosa pentosas. Esto se ha confirmado en ratas (VERZAR 1936), en palomo y en rana (WESTENBRINK 1936 y 1937), gato (DAVIDSON 1940) y en humanos (GROEN 1937). La velocidad de absorción de glucosa y de galactosa es máxima con concentraciones relativamente bajas en el lumen, mientras que para los otros azúcares se requiere aumento de la concentración.

El intestino delgado es capaz de transportar activamente contra un gradiente de concentración desde el lumen hacia la sangre un cierto número de monosacáridos. Según CRANE (1960) y WILSON (1960) el transporte activo de monosacáridos requiere unas características especificadas en la molécula que son: tener conformación de anillo piranósico, poseer un grupo hidroxilo en posición 2, un carbono unido a la posición 5 y pertenecer a la serie de D-monosacáridos.



FISHER Y PARSONS (1953) observaron que la velocidad de transporte alcanzaba un valor límite a concentraciones elevadas de sustrato, es decir, se trataba de un proceso saturable que presentaba una cinética tipo Michaelis-Menten caracterizándose cada azúcar por presentar una velocidad máxima y una constante de transporte representativa de la afinidad por el transportador (CURRAN 1972, DEBMAN 1972, 1973).

Entre los azúcares que son transportados activamente puede existir una inhibición competitiva, lo que induce a pensar que utilizan un sistema de transporte común (ALVARADO 1962).

El transporte de azúcares está constituido por un sistema dependiente de sodio localizado en el borde en cepillo (GOLDNER 1969, MURER 1974, HOPFER 1975) seguido de una salida pasiva localizada en la membrana basolateral (MURER 1976, KIMMICH 1976 a,b) constituida por un mecanismo de difusión facilitada que puede ser inhibido por la presencia de teofilina (RANGLES 1978), floretina (KIMMICH 1976a, HOLMAN 1976, HOPFER 1976, RANGLES 1978), bioflavonoides (KIMMICH 1978) y citocalasina B (KIMMICH 1979), siendo más potente este último.

El sistema dependiente de sodio, situado en el borde en

cepillo tiene dos puntos de unión, uno para el sodio y otro para el azúcar, presentando una mayor afinidad por el azúcar cuando el lugar del sodio está ocupado por él. El complejo ternario se forma fácilmente cuando en el medio exterior existe una elevada concentración de sodio, mientras que la baja concentración de este ion en la superficie interna de la membrana permite que el complejo libere sin dificultad el sodio y el azúcar (CRANE 1965). Seguidamente el ion sodio es expulsado por la bomba electrogénica que mantiene el sistema equilibrado para posteriores entradas de azúcar. Esta bomba electrogénica situada en la membrana basolateral requiere energía para su funcionamiento, aceptandose que dicha energía proviene de la hidrólisis del ATP al descubrirse la existencia en el epitelio intestinal de todas las especies estudiadas una enzima que produce dicha hidrólisis solamente en presencia de iones sodio y potasio denominada ( $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ) ATPasa (SEMENZA 1971).

Ultimamente KIMMICH (1980) utilizando células intestinales aisladas de pollo ha postulado la existencia de un transportador para la glucosa que presenta dos puntos de unión al sodio resultando una forma catiónica ( $\text{Na}_2\text{CS}$ ) al unirse con el sustrato, de tal manera que se puede explicar el gradiente de 70 obtenido (KIMMICH 1979).

El transporte activo de azúcares se ha visto que resulta inhibido competitivamente (ALVARADO 1967) por la presencia de floricina a bajas concentraciones tanto "in vitro" (FICHER 1950, SMYTH 1955, JERVIS 1956, CRANE 1960, MATTHEWS 1960, BIHLER 1961, ALVARADO 1962) como "in vivo" (DEBMAN 1978, ILUNDAIN 1979).

Otra característica que se ha observado en el sistema de transporte del borde en cepillo es el efecto inhibitor provocado por la exposición del mismo a metales pesados, en particular a mercuriales (FREZELL 1970, SCHAEFER 1973, STIRLING 1975), observándose que los animales jóvenes son más sensibles (KOSTIAL 1978, MILLER 1980).

ROBINSON (1980) ha postulado la hipótesis sobre la importancia de la vía paracelular en la absorción intestinal, así cuando un sustrato es perfundido "in vivo" se ha de tener en cuenta el importante papel que desempeña la difusión (BOOTH Y KANAGHINIS 1963), suponiéndose que la mayor parte del mismo pasa a la sangre siguiendo un gradiente de concentración; sólo cuando la concentración en el lumen desciende por debajo de la del plasma, la vía intercelular empieza a jugar un papel importante no solo para absorber la sustancia remanente en el lumen sino para reabsorber la posible sustancia que ha sido devuelta al lumen (LUCKE 1978).

La difusión en el lumen se produce y el enterocito actuaría reabsorbiendo la sustancia y de este modo minimiza las pérdidas y así mantener una diferencia de concentración entre el plasma y el lumen (CHRISTENSEN 1963, JACOBS 1965). Según este modelo, "in vivo" el sustrato es absorbido en un principio por la vía transcelular en muy pequeña cantidad, siendo por difusión tal vez, a través de una ruta paracelular (ROBINSON 1980).

En cuanto a la posible localización de los puntos de difusión FROMTER (1972) estudiando las uniones estrechas del epitelio intestinal observó que eran permeables al agua y a iones pequeños. Se ha estudiado la permeabilidad al lantano en el colon de rata "in vitro" (MACHEN 1972) observando un descenso de la permeabilidad en presencia de 2,4,6-triaminopirimidina (TAP) y por el contrario más permeable con la oxifenisatina, sustancia de la que se ha visto tanto "in vivo" como "in vitro" un efecto inhibitor sobre la absorción intestinal de azúcares. En experimentos con preincubación "in vitro" se ha visto el efecto inhibitor permanente de la oxifenisatina (CASTELLARNAU 1979) del mismo modo que se ha visto "in vivo" (MORETO 1977). Es posible que este compuesto se una al tejido del mismo modo que lo hace la fenoftaleína (ADAMIC 1967), provocando un cambio en la estructura de la superficie de la membrana, interfiriendo con los mecanismos de transporte de la célula. Este compuesto debe interferir

en el suplemento energético de la célula ya que disminuye el consumo de oxígeno por el tejido intestinal (CORTES 1977). El efecto inhibitor es superior "in vitro" que "in vivo" pues en el primer caso concentraciones de  $10^{-3}$  M provocan una inhibición del 100% en la absorción de glucosa, mientras que "in vivo" sólo se obtiene una inhibición del 50% empleando la misma concentración (CASTELLARNAU 1979).

Debe existir un componente paracelular del transporte de azúcares a través del intestino delgado (BOYD 1979, LOESCHKE 1971, RINALDO 1975). Otra posible ruta para la difusión sería el paso entre las células en los puntos de descamación en el extremo de las vellosidades (RITTER 1957). No obstante, estudios electromicroscópicos sugieren que la continuidad del epitelio permanece intacto en la zona de descamación, siendo las células exfoliadas simplemente empujadas hacia el lumen por sus sucesoras. En este caso no tendría que existir diferencia entre las uniones estrechas en la zona de descamación y las localizadas en otra zona del villi (DAVID 1967).

Teniendo en cuenta la estructura de las uniones estrechas formadas por interdigitaciones (CLAUDE 1973) se podría suponer el paso a través de las mismas por abertura y cierre de estas, siguiendo los movimientos peristálticos, de ahí la mayor importancia de la difusión "in vivo" que "in vitro" (ROBINSON 1980).

#### 2.2.1.1. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE SODIO

El importante papel que desempeña el ion sodio en la absorción intestinal de azúcares se encontró al observar el descenso en la misma provocado por adrenalectomía de los animales (CORI 1927, WILBRANT 1933) y la posterior recuperación al añadir cloruro sódico al agua de bebida de los animales operados (DEUEL 1937, ALTHAUSEN 1939, CLARK 1942). A partir de entonces se han venido realizando numerosos trabajos con el fin de esclarecer la dependencia que presenta la absorción de azúcares respecto de la concentración de ion sodio en el lumen intestinal.

RIKLIS Y QUASTEL (1958) comprobaron "in vitro" que el sodio era imprescindible para que tuviera lugar el transporte activo de glucosa, siendo confirmada dicha observación usando varias preparaciones "in vitro" (BHILER 1969a,b, CRANE 1976).

También se ha observado que la ausencia de ión sodio afectaba la absorción de azúcares de modo similar a la presencia del inhibidor floridicina (MILLER 1961) y que el movimiento de glucosa hacia la pared intestinal era proporcional al movimiento del sodio (CAPRARO 1963).

Utilizando técnicas "in vivo" se ha observado una inhibición en la absorción con concentraciones bajas de ion sodio en rata (CSAKY 1963, LARRALDE 1962, ORTIZ 1979), en perro (ANNEGERS 1964) y en humanos (OLSEN 1968, SLADEN 1969). DEBNAN (1979) encontró muy poca reducción, del orden del 21,4 % en la absorción de glucosa por yeyuno de rata "in vivo", al disminuir la concentración de ion sodio de 143 mN a 25 mM, pero en cambio para la galactosa se producía una reducción del 44%.

No obstante algunos autores han encontrado unos resultados opuestos, este es el caso de BURDETT (1971) que no observó efecto de la ausencia de sodio sobre la absorción de azúcares por el intestino de hamster "in vitro" y el de FORSTER (1973) en los experimentos realizados con una concentración de glucosa de 5,6 mM en que no observa efecto en los diez primeros minutos del ensayo, pero a medida que transcurre el tiempo observa un relativo descenso de la absorción de azúcares. Algunos experimentos realizados "in vivo" han mostrado una falta de dependencia del ion sodio (BEYLER 1977, FORSTER 1973, SALTZMAN 1972).

A pesar de estos resultados contradictorios la idea más

aceptada es que la dependencia del transporte activo de azúcares respecto del sodio es función de la concentración de ion que influye en la velocidad de penetración, nivel de acumulación y velocidad de intercambio en estado estacionario (BIHLER 1962, HENDLEY 1957). No obstante esta dependencia del ion sodio sólo se ha visto para los azúcares transportados activamente (FAUST 1962, BIHLER 1962).

El ion sodio no sólo resulta necesario para la absorción de azúcares sino que no puede ser sustituido por otros metales alcalinos o alcalinoterreos (BELLO 1963, BIHLER 1961, 1962, CSAKY 1960, FAUST 1962, HENDLEY 1957) ni tampoco por Tris, colina o manitos, observándose con éste último la máxima inhibición del 70-80% y mínima con Tris (ORTIZ 1979).

Con el fin de poder explicar esta dependencia del transporte activo de la presencia de sodio en el lumen se postularon varias teorías:

- CRANE en 1962 presentó un modelo cinético constituido por un complejo ternario formado por la unión del transportador o "carrier" al sustrato y al ion sodio, siendo el sodio un efector alostérico y aumenta la afinidad del

transportador por sustrato y/o la velocidad de transporte a través de la membrana.

El ion potasio compite, en este modelo, con el sodio por el mismo sitio pero su efecto cinético es inverso, disminuyendo la afinidad (MONOD 1965).

- SHULTZ (1964, 1977) propone un modelo que es una modificación del propuesto por CRANE (1962). En este modelo se supone: a) la presencia de un transportador en la membrana mucosal que facilita la entrada del azúcar acoplado a la entrada de sodio. b) un mecanismo dependiente de energía y sensible a la ouabaina en la membrana basolateral capaz de extraer activamente al sodio de la célula. Esta bomba mantendría una concentración intracelular de sodio bajo, lo que favorecería la entrada de sodio siguiendo su gradiente de concentración y que se acoplaría al movimiento de azúcares hacia el interior (ARMSTRONG 1972). La localización de esta bomba se basó en el hecho de que la ouabaina inhibe el transporte activo de sodio cuando estaba presente en el lado serosal, en cambio no tenía efecto si se colocaba en el mucosal (SCHULTZ 1964)

### 2.2.1.2. EFECTO DEL pH

Experimentos antiguos realizados en rata (LASTZ 1935) y en humanos (CROEN 1937) sugirieron que la absorción de glucosa presentaba un máximo a pH 7. Más tarde PONZ Y LARRALDE (1950,1951) trabajando con ratas "in vivo" mostraron que el pH del medio afectaba a la absorción de azúcares con valores máximos de absorción a pH aproximadamente de 7 y disminuía por alcalinización o acidificación del medio.

Recientemente ORTIZ (1979) también ha observado "in vivo" que la absorción de D-glucosa, D-galactosa y D-fructosa se veía afectada por el pH, con un máximo de absorción a pH 7 y que iba declinando a medida que se alejaba de dicho pH, tanto por alcalinización como por acidificación; en cambio no afectaba a la absorción de D-arabiosa. La inhibición de la absorción debida a cambios de pH con relación al pH igual a 7 fue mayor para D-galactosa, ligeramente inferior para D-glucosa y todavía menor para D-fructosa. Estas alteraciones podrían ser atribuidas a cambios en la afinidad de los mecanismos transportadores hacia los sustratos.

Por el contrario utilizando sacos evertidos de oveja se

observó un incremento en el transporte activo de glucosa y de galactosa al disminuir el pH de 7 a 5, siendo representativo dicho incremento por una mayor cantidad de sustrato transportado en contra de un gradiente y se supone debido a un descenso de la metabolización (SCHARRER 1979). Estos resultados opuestos a los encontrados en la rata parecen indicar un distinto mecanismo transportador entre los rumiantes y los no rumiantes.

Los experimentos realizados en rata "in vitro" son a pH 7,2, considerado como el óptimo para ello (PORTEUS 1972).

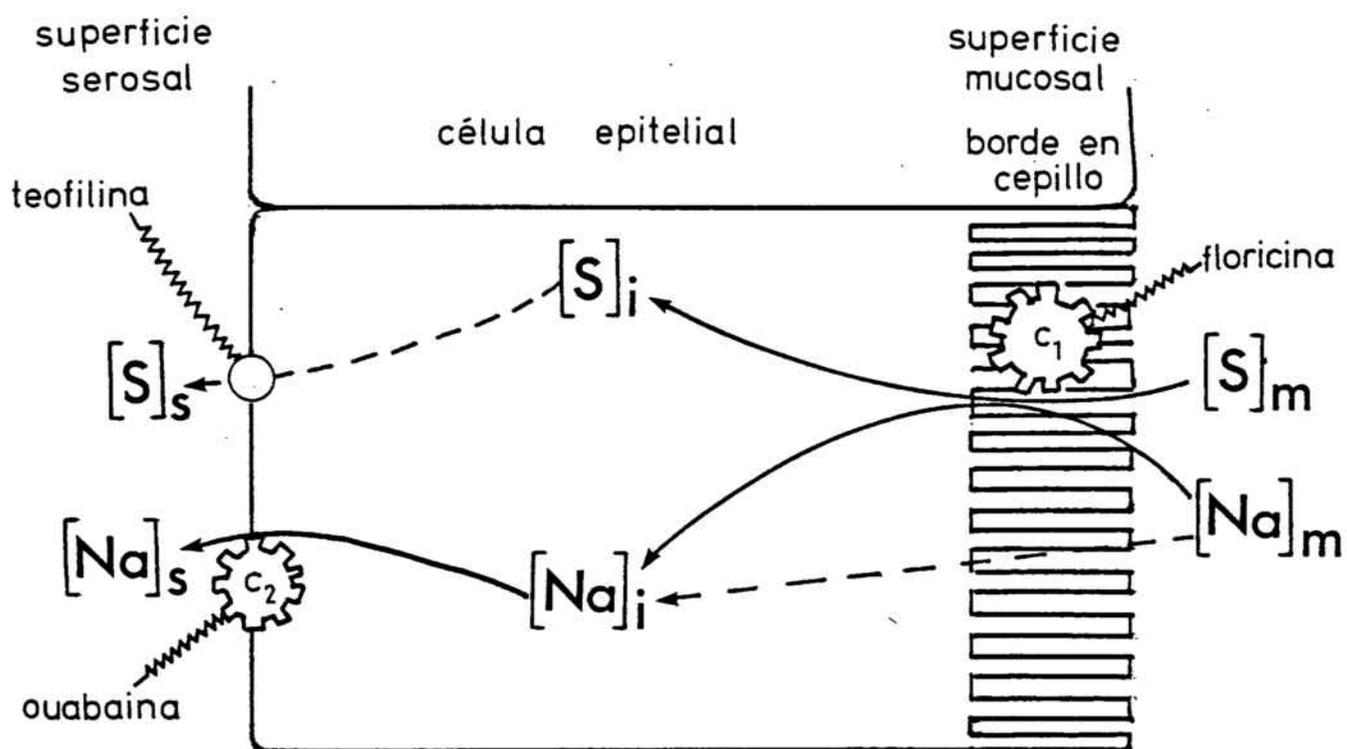
#### 2.2.1.3. RITMO CIRCADIANO

Se han postulado la existencia de variaciones en la absorción intestinal de azúcares (FURUYA 1974, MURAKAMI 1977) según la hora del día en que se realizaban los ensayos. Esta ritmicidad no sólo se ha observado para la absorción sino también para otras funciones de la mucosa intestinal ampliamente relacionadas con ella tales como la síntesis de DNA, el contenido del homogenado mucosal, la velocidad de mitosis, longitud de los villi y el número de células (BULLOUGH 1948, FURUYA 1979, SIGDESTAD 1969, STEVENSON 1979). Las variaciones diurnas aparecen

FIGURA 6

MODELO DEL TRANSPORTE DE SUSTRATOS ASOCIADO AL  
DEL SODIO A TRAVES DE LA MUCOSA INTESTINAL

$[S]_m$	concentración de sustrato en el lado mucosal
$[Na]_m$	concentración de sodio en el lado mucosal
$[S]_i$	concentración de sustrato en el interior de la célula
$[Na]_i$	concentración de sodio en el interior de la célula
$[S]_s$	concentración de sustrato en el lado serosal
$[Na]_s$	concentración de sodio en el lado serosal
$C_1$	transportador o "carrier" en el borde en cepillo
$C_2$	transportador o "carrier" en la membrana basolateral



tanto en lo que respecta a la longitud de los villi como al número de células de los mismos (STEVENSON 1980), siendo mayores los villi en el tiempo de la comida (STEVENSON 1979).

FURUYA (1974) encontró un ritmo circadiano en la absorción intestinal "in vivo" de la D-glucosa con un máximo durante la noche y un mínimo por la mañana, pero si el ayuno se prolongaba a 36 horas la absorción permanecía baja, desapareciendo la ritmicidad. Una explicación para este hecho podría ser el que las ratas son nocturnas, comiendo preferentemente por la noche, período en el que la absorción es máxima.

Estudiando el efecto sobre la absorción intestinal de glucosa de la hora del día se vió que mientras a las 8 de la mañana era un 45% de la cantidad administrada, valor que aumenta progresivamente y alcanza el máximo de un 85% a las 3 de la tarde (HORVATH 1950).

Las funciones absorptivas del intestino delgado muestran variación circadiana sincronizada con el ciclo alimentación-ayuno (FURUYA 1974, SAITO 1972, 1975, 1976, STEVENSON 1976), mostrando el mayor transporte y la actividad enzimática un paralelismo con el momento de la alimenta-

ción (STEVENSON 1975, 1976, 1980), así como con la longitud de los villi y el número de enterocitos (SIGDESTAD 1969, STEVENSON 1979).

De los estudios de MURAKAMI (1977) se desprende que la glucosa se absorbe principalmente por transporte activo en el período de ayuno cuando la concentración luminal es baja y por difusión cuando la concentración es máxima, es decir después de comer.

#### 2.2.1.4. DIFERENCIACIONES CON LA ZONA INTESTINAL

La capacidad de absorción de azúcares difiere según la zona del intestino que se considere; así se ha visto que es en el intestino delgado donde esta capacidad es máxima y en el intestino grueso prácticamente no hay absorción (BARRY 1961, SUND 1978).

Debido a esta mayor capacidad del intestino delgado, constituye la zona de mayor interés en cuanto a los estudios de absorción intestinal, si bien hay que distinguir entre duodeno, yeyuno e ileon. En cuanto a los animales empleados en estos estudios es necesario realizar una distinción según se trate de mamíferos o de aves.

Ya en 1949 FISHER Y PARSONS encontraron un mayor transpor-

te de glucosa en el yeyuno de la rata y dicho transporte va disminuyendo a lo largo del intestino delgado a medida que se aproxima a la válvula ileocecal. Posteriormente fueron confirmados estos hallazgos por otros autores (BARRY 1961, CORDERO 1961, LONG 1967, PARSONS 1964, POWELL 1968, PRITCHARD 1977). Con intestino de hamster CRANE Y MANDELTAM (1960) también obtuvieron resultados similares para la absorción de azúcares.

En cuanto a las aves estudiando la absorción de galactosa en el pollo "in vivo" desde el final del duodeno al comienzo del intestino grueso se vió una máxima absorción en la parte del intestino delgado que corresponde a la zona donde se encuentra el resto de la inserción del vitelo (RUANO 1974). Los valores de absorción descienden en los tramos distal y proximal, siendo mínima en la zona más cercana al duodeno. Dichos resultados se confirmaron en 1979 por GAUTHIER.

Hasta ahora sólo se ha considerado la absorción total, no distinguiéndose entre el componente de difusión y el de transporte activo, punto que presenta discrepancias entre los distintos autores.

SUND (1978) observó "in vivo" que la mayor capacidad de transporte por cm era en el yeyuno, hecho que se demues-

tra por la mayor cantidad de glucosa absorbida a bajas concentraciones. También se observó una mayor permeabilidad pasiva en el yeyuno que en el ileon o el colon, debido a una mayor fracción absorbida a elevada concentración de glucosa.

El colon se caracteriza por una mínima capacidad para transportar glucosa y como el ileon muestra un menor transporte pasivo. Ello muestra cierta evidencia que la permeabilidad pasiva para la glucosa varía en el mismo sentido que los electrolitos y no electrolitos como manitol, urea y polietilenglicol (BILLICH 1969, CHADVICK 1976, FORDTRAND 1965, SCHULTZ 1974).

DEBMAN (1978) observó "in vivo" una mayor absorción de glucosa y galactosa en yeyuno que en ileon, expresada por una  $V_{max}$  superior, no obstante en cuanto a la afinidad por el transportador expresado por  $K_t$  encontró que dicho parámetro en el ileon era menor lo que es indicativo de una mayor afinidad.

#### 2.2.1.5. INFLUENCIA DE LA EDAD

En diversos estudios sobre la absorción intestinal de azúcares se ha visto la diferencia existente según la

edad de los animales, pero sin haber una unificación en los resultados obtenidos. Así se ha observado "in vivo" que la 3-oximetilglucosa era menos absorbida en ratas lactantes que después del destete (YOUNOSZAI 1974), si bien cuando se basa la absorción en el peso seco del yeyuno y del ileon perfundido observa una mayor absorción en ratas de 21-22 días que en las de 7-8 días o en las de 14-15 días de edad.

En 1978 YOUNOSZAI estudió la absorción de D-glucosa "in vivo" en ratas macho de edades comprendidas entre los 7 y los 73 días, a lo largo de todo el intestino delgado, observando un porcentaje de absorción mayor en el grupo de 21-23 días que en las más pequeñas, cuando la concentración era de 10 mg/ml pero a concentraciones menores era prácticamente la misma.

PENZES (1978) también estudió la diferencia de absorción de glucosa pero en grupos de ratas de 6, 12 y 27 meses, obteniendo una  $V_{max}$  mayor en ratas de 27 meses que en las más jóvenes.

Estudios realizados en ovejas "in vivo" (SCHARRER 1979) presentan un marcado descenso en la absorción de glucosa y de galactosa con la edad, que no puede atribuirse a un descenso en la superficie absorbente, si bien se podría

relacionar con un descenso en los transportadores del borde en cepillo, pues "in vitro" la absorción de galactosa a través del borde en cepillo decrece con la edad (PETER 1978).

En 1972 ROMMEL encontró un aumento de la absorción de arbutina con la edad en grupos de ratas de 3,12 y 24 meses, tanto de la absorción por transporte activo como de la absorción total.

"In vitro" se ha estudiado la acumulación de 3-oximetilglucosa por anillos intestinales de rata a los 1-2 y a los 32-33 días, observándose una mayor eficacia del transporte en los de más edad (BATT 1969).

Estudios realizados en nuestro laboratorio utilizando la técnica de los sacos evertidos han revelado un transporte activo de D-galactosa mayor en ratas de 9-10 días disminuyendo hasta los 22 días en que se estabiliza, no diferenciándose de los animales de 45 días (GUERRERO 1980).

Los estudios relativos a la relación entre la absorción y la edad no sólo se han realizado en rata y así en la oveja se observó que la absorción de galactosa era máxima en el período de 1-8 días después del nacimiento (SCHARRER 1976, 1979). En el cobaya la acumulación de  $\gamma$ -metilglucósido por anillos intestinales, es máxima

entre los días 1 y 4 postpartum, aunque antes del nacimiento ya se observó acumulación en contra de un gradiente (BUTT 1968).

En el pollo BORGNER (1961, 1965) al estudiar la acumulación de glucosa y de galactosa observó un incremento entre el día de la eclosión del huevo y el segundo día de vida, manteniéndose después los valores hasta la edad adulta. HOLSWORTH (1967) encontró unos resultados similares con  $\gamma$ -metilglucósido con un marcado incremento de la capacidad de transportar azúcares desde 4 días antes de la eclosión del huevo hasta 10 días después.

RAHEJA (1977) estudia el transporte de 3-oximetilglucosa y de glucosa en pollos de 1 a 12 semanas de edad observando que la máxima capacidad de transporte se daba en animales de 1 semana, disminuyendo progresivamente hasta la doceava semana, no siendo significativas las diferencias en las últimas semanas estudiadas. Utilizando la técnica de los sacos intestinales evertidos adaptada a pollos de edades comprendidas entre 1-3 días y 79-81 días se ha observado que la absorción de galactosa era máxima en los animales más jóvenes produciéndose un descenso progresivo con la edad (GAZA 1980).

Con las hexosas se ha visto que muestran un aumento de

su transporte en la tercera semana en el ratón (CALINGAERT 1965).

Se ha intentado explicar las variaciones en la absorción a distintas edades mediante estudios sobre el tamaño y el número de las vellosidades intestinales. Así se han llevado a cabo estudios para ver el cambio en las dimensiones de la mucosa intestinal de ratas jóvenes (PERMEZEL 1971), lactantes (BOYNE 1966, FELL 1963) y viejas (CLARKE 1971, FORRESTER 1972). Ultimamente PENZES (1978) ha observado que la longitud de los villi en la rata va aumentando con el crecimiento del animal hasta llegar a 150 g de peso corporal, en que permanece constante, de acuerdo con los resultados de FISHER (1950). En el trabajo de PENZES (1978) se ha visto una correlación entre la edad y la longitud relativa, describiéndose una ecuación que relaciona el peso corporal con el logaritmo de la longitud:

$$\text{Log } y = 5,135 - 0,008 + 10^{-5} x^2$$
, siendo  $x$  el peso corporal e  $y$  la longitud del intestino delgado.

Relacionado con los cambios en el area de la mucosa se ha visto que la relación area/longitud, expresada en  $\text{cm}^2/\text{cm}$  y más aún el area como  $\text{cm}^2$  muestran un descenso en los animales jóvenes (12 semanas) desde el ligamento de Treitz a la unión ileocecal de acuerdo con lo hallado

por FISHER (1950) que postuló un descenso lineal de dicha relación en  $\text{cm}^2/\text{cm}$ , desde el extremo proximal al distal, hecho que también concuerda con lo hallado por otros autores (PERMEZEL 1971).

PENZES (1978) observó un aumento en la superficie de la mucosa seguida de un descenso. En la zona proximal la superficie es mayor, cabe destacar que los animales empleados eran viejos. Por otra parte aumenta la longitud del contorno de la serosa igual en la zona proximal y en la distal.

FORRESTER (1972) no observó cambios en el número de los villi de yeyuno e ileon de rata macho durante el crecimiento normal desde 60 g a 600 g de peso corporal.

CLARKE (1972) estableció que el número de vellosidades era constante a lo largo de toda la vida, excepto en los animales muy viejos en los que muestran una ligera reducción.

Se ha observado que en el yeyuno de oveja que los microvilli de los animales que recibían una dieta con forraje eran más cortos que los de aquellos que sólo tomaban leche mientras que los villi eran similares en ambos grupos. Se atribuye la mayor absorción de glucosa y de galactosa

en los animales con microvilli más largos a un aumento de la superficie absorbente por unidad de peso de intestino. No obstante no se aprecia diferencia entre los animales de 1-8 días y 2-3 meses que se alimentan exclusivamente de leche atribuyéndose las diferencias morfológicas antes comentadas a que en los adultos al existir un menor aporte de hidratos de carbono se adapta el intestino a ello. (SCHARRER 1979).

Estudiando la estructura del intestino del pollo se observó un descenso en el número de villi con el envejecimiento mientras que la longitud aumenta acompañado de mayor grosor de las capas submucosas. Observando el villi se ve que el número de células decrece con la edad, demostrándose este descenso por una disminución en la cantidad de DNA en los animales de más edad. Resumiendo, el autor atribuye el descenso en el transporte de glucosa con la edad a los efectos combinados de una disminución de la formación de células, a un descenso en el número de las mismas y a un aumento en el grosor de la submucosa (RAHEJA 1977).

TABLA I

EDADES DE MAXIMA ABSORCION DE AZUCARES ENCONTRADAS  
POR DIVERSOS AUTORES.

SUSTRATO	ANIMAL	EDAD	REFERENCIA
3-OMG	rata	21-22 días	YOUNOSZAI 1974
D-Glucosa	"	21-23 días	YOUNOSZAI 1978
D-Glucosa	"	27 meses	PENZES 1978
D-Galactosa	"	9-10 días	GUERRERO 1980
3-OMG	"	32-33 días	BATT 1969
Arbutina	"	24 meses	ROMMEL 1972
Hexosas	ratón	21 días	CALINGAERT 1965
-Metilglucósido	cobayo	1-4 días	BUTT 1968
D-Galactosa	oveja	1-8 días	SCHARRER 1976, 1979
D-Glucosa	pollo	1-2 días	BOGNER 1961
D-Glucosa	"	7 días	RAHEJA 1977
D-Galactosa	"	1-2 días	BOGNER 1965
D-Galactosa	"	1-3 días	GAZA 1980
3-OMG	"	7 días	RAHEJA 1977

### 2.2.2. SALIDA DE AZUCARES

Una importante función que se observa en la mucosa del intestino delgado es la de actuar como barrera que previene al contenido del organismo de difundir hacia el lumen pero solo es efectivo para algunas sustancias y la mayoría pasan del plasma hacia el lumen. Este fenómeno fue considerado por CODE 1960 con el término de "exorción".

LOEHRY y col. (1970) estudiaron este fenómeno para sustancias hidrosolubles en conejo mostrando una correlación con la concentración plasmática de la sustancia; así mismo también observaron que las moléculas grandes eran expulsadas más lentamente que las pequeñas hacia el lumen.

AXON (1975) estudió "in vivo" en intestino de conejo la salida de azúcares a una velocidad de perfusión de 10 ml/min en períodos de 10 minutos, añadiendo en algunos casos floridina obteniendo una mayor salida de glucosa.

La ruta exacta de salida de los azúcares es desconocida, debiendo pasar a través de los enterocitos, a través de las uniones estrechas o tal vez lleguen al extremo de los

villi y salir junto con las células que se desprenden. Alternativamente pueden llegar al lumen por difusión directa a través del enterocito.

Existen algunas evidencias para pensar que algunas moléculas, en especial iones pasan a través de una ruta extracelular hacia el lumen (SCHULTZ y FRIZELL 1972). La ruta transcelular supone el tener que atravesar varias barreras como son la pared capilar, lámina propia, membrana basal, citoplasma del enterocito, membrana de la microvellosidad.

Se ha visto que la glucosa y la galactosa presentan una salida distinta a la de xilosa, lactulosa o manosa lo que sugiere una ruta distinta o que presentan interferencia mutua en su paso a través de la pared intestinal.

Trabajos "in vivo" (ATKINSON 1957) muestran que a concentraciones plasmáticas fisiológicas de glucosa, ésta no pasa al lumen. CHRISTENSEN y GRAY (1963) mostraron que un azúcar no metabolizado pero transportado activamente como es la 3-Oximetilglucosa es expulsado y la presencia de glucosa en el lumen aumentaba la salida.

COCOO y HENDRIX (1965) usando floricina a una concentración  $2 \times 10^{-3}$  M observaron una mayor salida de glucosa y por el contrario el inhibidor metabólico 2,4 dinitrofenol no presentaba efecto sobre la salida de glucosa.

## 2.3. METODOS DE ESTUDIO DE LA ABSORCION INTESTINAL

### 2.3.1. METODOS IN VIVO

En 1925 CORI describió un método para medir "in vivo" la tasa de absorción de hexosas y de pentosas del tracto digestivo, para ello utilizó rata uniformes en edad y alimentación, dejadas en ayunas durante 48 horas con agua "ad libitum". Mediante una sonda se introducían 1,25-2,5 ml de una solución de azúcar al 25% calentada a 40° C, se procedía luego al sacrificio de los animales y se extraía el intestino. Los resultados se expresaban como cantidad de azúcar absorbido por 100 g de peso corporal por hora. Teniendo en cuenta que el coeficiente de absorción era relativamente constante CORI concluyó que había proporcionalidad entre la superficie de absorción del intestino y el peso de los animales.

HELLER Y SMIRK (1932) usaron un método parecido para seguir el curso de la absorción de cantidades de agua en la rata y WILSON Y LEWIS (1929) midieron la absorción de glucosa y de varios aminoácidos.

PAULS en 1942 y por su parte MACKAY en 1943 señalaron que los valores de absorción obtenidos tras la admi-

nistración de azúcar bajo las condiciones del método de CORI representaba un abastecimiento de carbohidratos suficiente para cubrir las necesidades basales diarias del metabolismo, aún si el azúcar se absorbía en el mismo grado a lo largo de las veinticuatro horas del día. Por otra parte, bajo las condiciones en que ocurre la alimentación, los coeficientes de absorción de glucosa encontrados eran mayores.

En los métodos usuales de absorción "in vivo", utilizando animales anestesiados se procede al aislamiento del intestino con ligaduras, se lava y se llena con una cantidad conocida de la solución en estudio, se recoge el contenido del segmento y se determina la absorción como la diferencia entre la cantidad de sustancia introducida al principio y la remanete al final. Es importante la elección del anestésico, el pH de los tampones de la solución y el llenado del segmento, así un segmento poco lleno puede no tener toda la superficie potencial de absorción expuesta a la solución y en casos extremos puede ser absorbida del todo antes del final del período de absorción. Un segmento muy lleno, por el contrario, puede presentar una reducción o una perfusión vascular del capilar mesentérico irregular, pudiendo afectar a la absorción.

Estudios realizados en perros han permitido observar que

cambios en la vascularidad mesentérica tenía efectos sobre la velocidad de absorción y que la presencia de agua destilada lesionaba las células de la mucosa (REID 1900).

VERZAR (1936) desarrolló una técnica con ratas que se anestesiaban previamente con uretano, tomándose un segmento intestinal de unos 30-60 cm que era lavado con suero fisiológico. El animal se mantenía caliente durante una hora para que se recuperase del shock operatorio y se introducía la solución en estudio en el lumen intestinal mediante una jeringa. Después de transcurrido un intervalo de tiempo de media a 8 horas se sacrificaba al animal y se recogía el contenido intestinal.

Existen métodos en los que se hace circular un volumen mayor al del lumen intestinal del segmento a una presión hidrostática constante, siendo el líquido efluyente recogido separadamente o vuelto a recircular. El primer experimento descrito fue en 1946 por SOLS Y PONZ. Bajo anestesia de uretano se abre el abdomen y se toma un segmento del intestino separado del resto y canulado, colocando la cánula superior en la parte alta del yeyuno y cuando el experimento se realiza en rata se coloca la cánula inferior a unos 30 cm de distancia de la

anterior. La cánula superior se conecta con un reservorio y la inferior con un tubo de goma, recogiendo el líquido en un recipiente. Una vez conectado el sistema se lava el segmento intestinal con suero fisiológico tras lo que se hace pasar la solución en estudio.

Una variación de este método es aquel en que se hace recircular el líquido recogido. En estos sistemas, el fluido que sale del intestino vuelve al reservorio, que proporciona la presión necesaria para volver a entrar, mediante la ayuda de gas constituyendo una ventaja el poder equilibrar la solución del lumen intestinal con una mezcla de gases de la composición deseada (SHEFF 1955, FULLERTON 1956, JERVIS 1956).

A veces no se desea que el fluido se equilibre con gas exógeno, la recirculación se puede mantener, en esos casos por medio de una bomba peristáltica que da una circulación continua sin necesidad de válvulas. Esta bomba fue usada en estudios del movimiento de  $\text{CO}_2$  y de bicarbonato entre la sangre y el lumen del intestino delgado y del colon de rata (PARSONS 1965).

Con este tipo de métodos se ha podido ver que la absorción de azúcares era la misma en períodos sucesivos

con lo que un mismo animal podía ser utilizado para estudiar distintas condiciones tales como cambios de pH, de concentración de sustratos, de iones o bien añadir sustancias inhibidoras de la absorción activa (PONZ 1979).

La principal ventaja de las técnicas "in vivo" es que reproducen las condiciones fisiológicas del organismo aunque por otro lado pueden existir ciertas condiciones que alteren el mecanismo en sí de absorción por las células absorbentes del epitelio intestinal, enmascarando este mecanismo. En los estudios realizados "in vivo" se ha visto que la excitación en las ratas tenía una influencia marcada sobre los resultados de absorción dando unos valores erráticos debido a la parcial anoxia del intestino provocada por la adrenalina liberada (FOLKLOW 1964, ROBINSON 1966). Por ello PORTEUS (1972) sugiere que los animales permanezcan durante una hora en la oscuridad con el fin de volverlos dóciles y así se obtienen unos valores para la absorción de glucosa más constantes.

### 2.3.1.1. INFLUENCIA DE LA VELOCIDAD DE PERFUSION

En los estudios de perfusión "in vivo" existe discrepancias en cuanto a la velocidad óptima de perfusión (ESPOSITO 1973, LEE 1973, BRONK 1979). LEWIS Y FORDTRAN (1975) observan que el ileon de rata al ser perfundido con una solución isotónica de glucosa 4 mM es capaz de soportar velocidades de perfusión tan elevadas como 200-12000 ml/h y que el aumento de la absorción de glucosa debida a un aumento de la velocidad es debida a una reducción, por definición, no traumática, de la capa no agitada, reducción que permite una mejor difusión de la glucosa intraluminal hacia los puntos de transporte activo de las células absorbentes.

PHAN (1980) encuentra que el transporte activo intestinal y el pasivo estan afectados marcadamente cuando la velocidad de perfusión supera los 12 ml/h usando concentraciones muy elevadas de azúcar del orden de 222 mM.

Cuando aumenta la velocidad de perfusión se produce un aumento de la tasa de absorción (CRAMER 1963, KOIZUIMI 1964, HOLSWORTH 1964, DAWSON 1968, SLADEN 1969, MODIGLIANI 1971, BIBER 1973, POINTER 1973, REY 1974, LEWIS

1975, HOLLANDER 1977 a,b, JODAL 1977). Tres factores contribuyen, la mayoría de las veces simultaneamente, a aumentar la tasa de absorción: primero, el descenso del gradiente de concentración a lo largo del segmento debido a la mayor velocidad lineal de la solución perfundida; segundo, la reducción del grosor de la capa no agitada por una mejor mezcla del fluido intestinal; tercero, el aumento del area de absorción por distensión del lumen intestinal (WINNE 1979).

#### 2.3.1.2. INFLUENCIA DE LA CAPA NO AGITADA

Cuando una molécula se mueve desde la fase acuosa del contenido intestinal hacia el epitelio de la célula intestinal debe atravesar dos membranas en serie, una capa de agua agitada y una membrana lipídica de la superficie del microvilli. Esta última tiene una capa no agitada que provoca limitaciones en el transporte pasivo (DIETSCHY 1971, SALLE 1971, WILSON 1971 a,b, SCHIFF 1972, WILSON 1972) dando como resultado unos coeficientes de permeabilidad más bajos y en el transporte activo da valores más altos de  $K_m$  (WILSON 1974, DUGAS 1975, WINNE 1976, 1979) lo que exige modificaciones en cuanto al cálculo de dicha constante (WINNE 1973, 1977 a,b, 1978, THOMSON 1979 a,b)

El grosor de esta capa oscila entre 100 y 50 nm en los roedores (WESTERGAAR 1974, WINNE 1976) y del orden de 500 nm en el hombre (READ 1976, 1977).

Se ha visto que la mucosa del yeyuno es más permeable de lo que se había pensado en un principio (WESTERGAAR 1974) y se desconoce la relación entre la diferente difusión pasiva observada en yeyuno e ileon con las propiedades de la membrana de las microvellosidades o el grosor de la capa no agitada (BORGSTROM 1960, KNOEBEL 1972, LEISSRING 1962).

Estudios realizados en conejos han demostrado que cuando la resistencia de la capa no agitada es elevada la tasa de absorción de los ácidos grasos es superior en animales viejos que en los lactantes. Agitando el medio para disminuir los efectos de la capa no agitada se observa una absorción mayor en los animales lactantes que en los adultos (THOMSON 1980).

### 2.3.1.3. EXPRESION DE LOS RESULTADOS

En los estudios que se han venido realizando sobre absorción intestinal "in vivo" se han expresado los resultados de muy distintas maneras. CORI (1925) utilizó un coeficiente de absorción definido por la cantidad absorbida por 100 g de peso corporal por hora; este coeficiente supone la existencia de una proporcionalidad entre el peso corporal y el area mucosal lo cual solo puese aplicarse a animales comprendidos en un rango muy estrecho de peso.

Varios autores han solventado el problema mediante la determinación de la superficie intestinal (WOOD 1944, FISHER 1950, GORDON 1961), otros han relacionado la superficie con el peso del tejido fresco o seco, (GORDON 1961), no obstante algunas condiciones tales como cambios hormonales, dietéticos, infecciones parasitarias pueden modificar el grosor de los tejidos de la pared intestinal y los datos de absorción calculados con este método han de ser cuidadosamente estudiados a la hora de interpretarlos (LEVIN 1963, 1965, 1967).

Otros muchos parámetros se han publicado sobre la expresión de los resultados: longitud del intestino (MARRAZI 1940, LARRALDE 1947, SULLIVAN 1961, ECKANAUER 1978), peso

de la mucosa raspada (SIMONS 1962), area de la serosa (HIDLE 1962), cantidad absorbida por todo el intestino (JERVIS, 1956, LEVIN 1966), porcentaje absorbido (KERSHAW 1960).

Un término aceptado es el de "longitud fisiológica" que se representa por la expresión  $I_{30g} \times 0,6$ , donde  $I_{30g}$  es la longitud del segmento intestinal separado del cuerpo y del que pende un peso de 30 g. El factor 0,6 corresponde a un valor arbitrario calculado de la relación entre  $I_{30g}$  y la longitud del mismo segmento en condiciones fisiológicas durante el experimento (VIDAL-SIVILLA 1950, PONZ 1979). Teniendo en cuenta que la longitud del segmento medida "in situ" muestra una gran variabilidad y errores por cambios en el tono muscular, mientras que la medición fuera del cuerpo y suspendiendo un peso de 30 g es más constante, es preferible este último método.

### 2.3.2. METODOS IN VITRO

La base el método de FISHER Y PARSONS (1950) para mantener un segmento de intestino "in vitro" es la hipótesis de que la actividad fisiológica de la mucosa intestinal depende de un suministro continuo de oxígeno a las células. El problema de proveer adecuadamente de oxígeno a las células puede solucionarse usando una bomba con un gran volumen de solución oxigenada que pase por el lumen o invirtiendo los segmentos intestinales de modo que las células de la mucosa estén expuestas directamente a un medio de incubación adecuado. Modificaciones en este método fueron introducidas por DARLINGTON Y QUASTEL (1953) para estudiar la absorción por el intestino de cobayo.

A pesar que durante la absorción la composición del fluido puede alterarse (ej: el sustrato puede ser absorbido, la concentración puede variar, el pH, la concentración de bicarbonato, etc.) la tasa de absorción para un sustrato estará afectada por los valores del volumen de fluido en el lumen y por la cantidad de tejido expuesto. Con un pequeño volumen en el lumen de un segmento intestinal es posible que hayan cambios de concentración de la sustancia. La exposición de la superficie de absorción a un

volumen de fluido grande permitirá amortiguar los cambios de concentración, no obstante a menudo no es posible prevenir estos cambios para sustancias que se absorben rápidamente como la glucosa.

La técnica de los sacos intestinales evertidos de WILSON Y WISEMAN (1954) logra la oxigenación de las células de la mucosa por exposición de la superficie de sacos evertidos a un gran volumen de solución bien oxigenada, conteniendo el sustrato. A partir de mamíferos pequeños como la rata o el hamster se extrae el intestino que se evierte mediante una varilla de vidrio o de acero, haciendo rodar la mitad del intestino por la varilla. Una vez lleno y atado se coloca el intestino en un erlemeyer conteniendo el sustrato en estudio con un buen aporte de carbógeno. Se inyecta suficiente fluido para distender el saco y reducir el grosor de la pared y separar las vellosidades.

Existen objeciones en cuanto al empleo de sacos evertidos, así en el intestino de rata la glucosa añadida al fluido mucosal estimula el movimiento de líquido y dependiendo del grado inicial de distensión del saco se puede tener una distensión demasiado grande. Distintos grados de distensión producirán diferente separación de la superficie de las vellosidades y otro inconveniente es que el saco

puede gotear. En otras técnicas se canulan los sacos evertidos permitiendo recoger muestras a distintos intervalos de tiempo (CRANE y WILSON 1958, JOHSTON 1958, CLARKSON y ROTHSTEIN 1960).

WILSON en 1956 describió un método combinado de saco evertido con el método de circulación, siendo la principal ventaja que permite el estudio de la absorción de fluido en contra de presiones hidrostáticas controladas. Otros autores han realizado también experimentos de recirculación del fluido a través de segmentos evertidos, con la ventaja de poder realizar además estudios de cambios de potencial eléctrico durante la absorción (BORLE 1963, BARRY 1964).

Anillos intestinales procedentes de intestino evertido también han sido utilizados para estudios de absorción (AGAR 1954, CRANE y MANDELSTAN 1960, BOASS 1962), siendo posible con ellos estudiar también la acumulación de sustrato en la pared intestinal.

Un método que ha tenido aplicaciones ha sido el empleo de cámaras de polietileno conteniendo las soluciones tamponadas con el sustrato en estudio y en las que se colocan trozos de intestino al que se retira la capa de tejido conectivo (NAFTALIN 1974 a,b) o no (COOKE 1980)

pudiéndose calcular la concentración de sustrato al cabo de un tiempo tanto en el lado mucosal como en el serosal y el retenido por el tejido y a partir de estos datos determinar los flujos de entrada y de salida del sustrato (HOLMAN 1975).

El aislamiento de células intestinales nos permite realizar estudios sobre la absorción por la propia célula, descartando otros mecanismos que interfieren, siendo para ello necesario separar las células absorbentes del resto de células que forman la pared de la mucosa intestinal. En las primera técnicas descritas se utilizaba la disociación por la tripsina (HARRER 1964) o por la liozima (HUANG 1965), pero se han ido abandonando por otras técnicas en las que se consigue una mayor viabilidad de las células.

La disociación enzimática por la hialurodinasa (PERRIS 1966), citrato sódico y hialuronidasa (STERN 1966), la colagenasa (YOUSEF 1972) han sido propuestas para el aislamiento de enterocitos, si bien cabe resaltar que el tipo de hialuronidasa utilizada difiere según el animal empleado, necesitándose una de mayor actividad en el caso de la rata (SAYEED 1972) que el del pollo (KIMMICH 1970).

La quelación de cationes divalentes en el medio con EDTA ha sido propuesta para aislar enterocitos de cobayo (EVANS 1971) y de rata (MITJAVILA 1972). Estas técnicas tienen en común una duración relativamente corta de aplicación del agente disociante, del orden de 15-30 minutos y excepcionalmente de 60 minutos. En la técnica propuesta por HARRISON (1969) se hace intervenir EDTA combinado con un efecto vibrador de alta frecuencia y pequeña amplitud aplicado al intestino de rata retorcido sobre un espiral de vidrio, permitiendo separar células de los villi en 20-30 minutos. Las células de las criptas se separan por el efecto simultáneo de la vibración eléctrica y de una dilatación mecánica del intestino.

WEISER en 1973 describe una técnica en la que un segmento del intestino aislado y ligado se somete a dos perfusiones sucesivas con una solución de EDTA y ditioeritrol. Una simplificación de esta técnica permite separar las células a lo largo del eje de la vellosidad del intestino de la rata según el desarrollo postnatal del animal.

El examen microscópico en contraste de fase revela la presencia de numerosos enterocitos intactos (KIMMICH 1970,

REISER 1971, RAUL 1977) pero también la presencia de células no disociadas de la vellosidad o de las criptas (YOUSEF 1972, GALL 1974, TOWLER 1978). La mucosidad observada después del aislamiento de las células puede ser eliminada si se realiza una primera exposición a la hialuronidasa, despreciando el primer líquido y volviendo a atacar el tejido con nueva hialuronidasa (SAYEED 1972).

La integridad de la membrana celular se aprecia con el test del azul de Tripan que indica una proporción del 70% (FREUND 1975, GAGINELLA 1977) o del 80-90% (KIMMICH 1970, REISER 1971, YOUSEF 1972, PRIOR 1974, RAUL 1978) de células viables. Algunos trabajos han encontrado una actividad respiratoria durante dos horas (KIMMICH 1970, EVANS 1971) evaluada por la formación de  $CO_2$  radioactivo a partir de glucosa marcada, por la conservación de la capacidad biosintética de proteínas (YOUSEF 1972, TOWLER 1978), glicoproteínas (YOUSEF 1972, WEISER 1973) o de mantener una proporción intercelular satisfactoria de nucleótidos (TOWLER 1978). La viabilidad de las células aisladas con hialuronidasa se demuestra por mantener su capacidad transportador de azúcares (KIMMICH 1970, TOWLER 1978, RANGLES 1978).

Entre las últimas técnicas "in vitro" para el estudio de

la absorción intestinal se ha desarrollado un método consistente en la formación de unas vesículas a partir del borde en cepillo (MURER 1974, 1976, HOPFER 1976) o de la membrana basolateral (MIRCHEFF 1976, 1978, 1979, VAN OS 1977, WALLING 1978, WRIGHT 1980):

### 3. MATERIAL Y METODOS

### 3. MATERIAL Y METODOS

#### 3.1. TECNICA IN VIVO

##### 3.1.1. ANIMAL UTILIZADO

Se han utilizado ratas Wistar de ambos sexos, procedentes de nuestro estabulario donde han recibido una dieta estándar tipo rata-ratón cría A.03 y donde se han mantenido en condiciones ambientales de temperatura y humedad controladas. Los animales se han agrupado según se edad en tres grupos: 21-23 días, 2-3 meses y 18 meses.

##### 3.1.1.1. TECNICA OPERATORIA

Tras mantener a los animales en ayunas durante 18 horas con agua "ad libitum" se han anestesiado con uretano al 12,5 % mediante inyección subcutánea a razón de 10 ml/Kg. Se ha realizado una laparatomía aislándose una porción de yeyuno y/o de ileon. Para localizar el yeyuno se parte de la ligadura de Treitz, dejándose unos centímetros y se toma una porción en dirección caudal. El ileon se aísla a partir de la válvula ileocecal y tomando una porción en dirección apical.

Los animales se colocan sobre una camilla calentada con una manta eléctrica para evitar el descenso de la temperatura corporal provocado por la acción de la anestesia y se coloca en el interior de una campana a temperatura controlada.

### 3.1.2. PRODUCTOS UTILIZADOS

Se da una relación de todos los productos utilizados en las distintas técnicas realizadas a lo largo de este trabajo.

- Acido sulfúrico (Pm = 98,09) PROBUS Art. 50490
- Arseniato disódico (Pm = 312,01) MERCK Art. 6284
- Bicarbonato sódico (Pm = 84,01) MERCK Art. 6329
- Carbonato sódico (Pm = 105,99) MERCK Art. 6392
- Cloruro sódico (Pm = 58,44) MERCK Art. 6404
- D-(+)-Galactosa (Pm = 180,16) MERCK Art. 4062
- D-(+) Glucosa monohidrato (Pm = 198,2) MERCK Art. 8342
- Dihidrógenofosfato potásico (Pm = 136,09) MERCK Art. 4873
- Floricina (floretina-2'- $\beta$ -D-Glucósido) (Pm = 434,6) SIGMA Chemical Company No P-3377

- Fosfato de sodio monohidrato (Pm = 137,99) MERCK  
Art. 6346
- Glutaraldehido 25% para microscopía electrónica  
MERCK Art. 12179
- Heptamolibdato amónico (Pm =) 1235,86) MERCK  
Art. 1182
- L-(+)-Arabinosa (Pm = 150,13) MERCK Art. 1492
- Sulfato de cobre (Pm = 249,68) MERCK Art. 2790
- Sulfato de sodio decahidratado (Pm = 322,19) MERCK  
Art. 6648
- Tartrato sódico potásico (Pm = 282,23) MERCK Art. 8087
- Tris (hidroximetil)-aminometano (Pm = 121,14) MERCK  
Art. 8382
- Uretano (Pm = 89,09) MERCK Art. 8490
- [C14]-Polietilenglicol 4000 (1,85 MBQ)  
The Radiochemical Centre Amerstram, England  
n° código GFA 508
- 2,4,6-Triamino pirimidina (Pm = 125,1) SIGMA Chemical  
Company No T-7001

### 3.1.3. SISTEMA DE PERFUSION IN VIVO

A cada una de las secciones del intestino aisladas se le conecta una cánula de vidrio de entrada y otra de salida acoplando el sistema a una bomba peristáltica GILSON modelo Miniplus II. El intestino se reintegra al interior de la cavidad abdominal.

El sistema de perfusión consta, tal como se muestra en la figura 7 de:

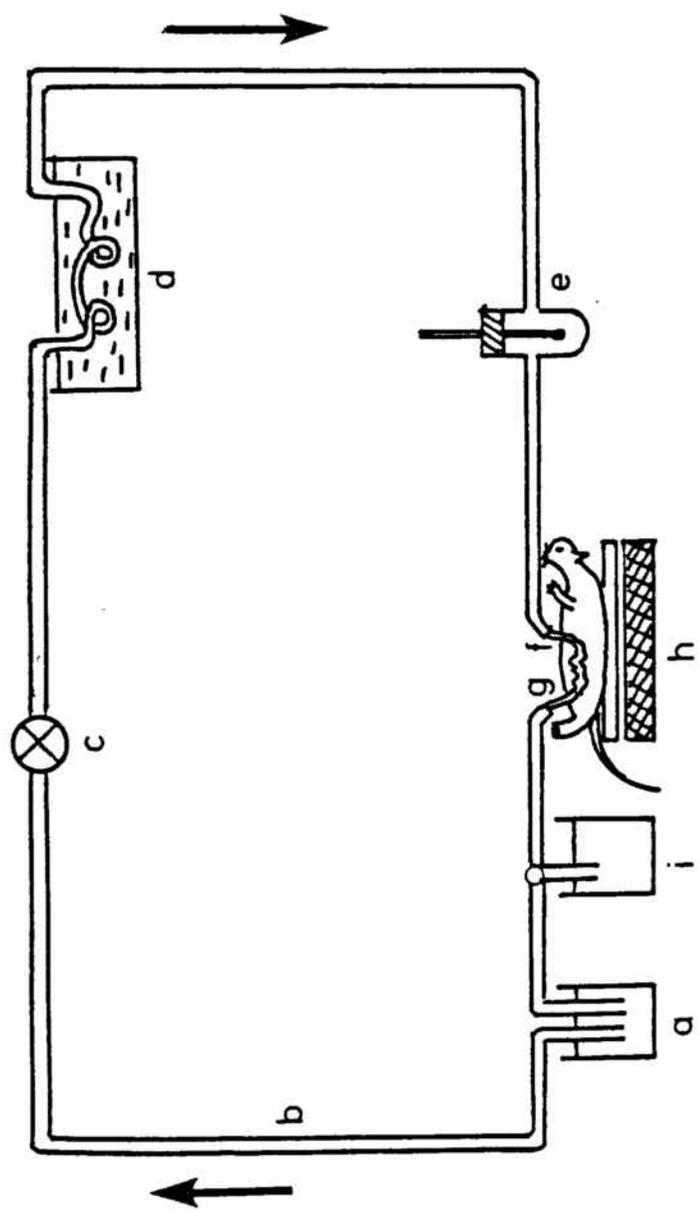
- a. un reservorio de la solución a perfundir, que a la vez es donde se recoge el líquido perfundido en las experiencias con recirculación.
- b. un tubo de plástico flexible por el que circula el líquido.
- c. una bomba peristáltica que nos conduce el líquido a la velocidad deseada, en nuestro caso a 3,5 ml/min.
- d. un baño termostatado ajustado a la temperatura adecuada para que el líquido penetre en el intestino a 37º C, en nuestro caso a 43º C.
- e. cánulas de entrada y de salida de líquido ligadas al intestino, de distinto grosor según la edad de los animales utilizados.

FIGURA 7

ESQUEMA DEL SISTEMA DE PERFUSION "IN VIVO"

- a.- reservorio del líquido a perfundir y del perfundido con circuito cerrado
- b.- tubo de plástico flexible
- c.- bomba peristáltica
- d.- baño termostatado
- e.- reservorio y control de temperatura del líquido antes de su entrada al intestino.
- f.- cánula de entrada al intestino
- g.- cánula de salida del intestino
- h.- manta termostática
- i.- recogida del líquido perfundido con circuito abierto.

28-30° C



SISTEMA DE PERFUSION "IN VIVO"

f. un recipiente de recogida del líquido perfundido en las experiencias realizadas en circuito abierto, sin recirculación.

Una vez conectado el sistema se lava el intestino con suero fisiológico hasta que el líquido recogido aparece claro y transparente (aproximadamente 50 ml). Seguidamente se procede a la perfusión de las soluciones en estudio.

#### 3.1.3.1. ESTUDIOS DE ABSORCIÓN

Se han realizado estudios de absorción de azúcares en los que se ha estudiado la cinética de la misma, el efecto del ion sodio y de diversos inhibidores.

##### 3.1.3.1.1. CINÉTICA DE LA ABSORCIÓN

Experiencias en las que se ha estudiado la cinética de la absorción de azúcares que son transportados tanto por difusión como por transporte activo o ambos. Para ello se ha realizado la perfusión en circuito abierto durante cinco minutos. Las concentraciones de D-Glucosa, D-Galactosa y de L-Arabinosa han sido: 2,5 - 5 - 10 - 20 y 40 mM en solución de cloruro sódico a la concentración necesaria para mantener la osmolaridad del medio a 308-310 mosmoles/l.

Para estudiar el componente de difusión de la D-Glucosa y de la D-Galactosa se ha inhibido el transporte activo con floricina a una concentración de  $5 \times 10^{-4}$  M.

### 3.1.3.1.2. EFECTO DEL ION SODIO

Se han realizado experiencias en las que se ha estudiado el efecto de la concentración de sodio en el líquido de perfusión sobre la absorción de D-Glucosa. Para ello se ha preparado una solución de D-Glucosa 10 mM en el medio de perfusión consistente en cloruro sódico al 0,9% o en soluciones con concentraciones decrecientes de cloruro sódico en las que se ha sustituido éste por las cantidades de Tris-HCl necesarias para mantener la isotonicidad del medio y de manera que las cantidades de ion sodio en los distintos medios fueran: 154 - 77 - 38,5 y 0 meq/l.

Antes de realizar cada perfusión se lava el intestino con el medio de perfusión idéntico al usado en el siguiente período de perfusión excepto el azúcar.

Se ha observado que es indistinto el medio en que se realice la disolución del sustrato: Krebs-Henseleit-Bicarbonato, Krebs-Ringer-Fosfato a pH 7,4 o solución salina isotónica de cloruro sódico al 0,9% (PONZ 1979), no viéndose diferencia en la absorción al usar uno u otro medio.

Tampoco se observa diferencia si se oxigena o no la solución con oxígeno o con carbógeno, no siendo necesario en los estudios "in vivo".

La perfusión se ha llevado a cabo mediante recirculación de la solución durante un período de 20 minutos, tomándose muestras de 25  $\mu$ l a los 1, 5, 10 y 20 minutos.

### 3.1.3.2. ESTUDIOS DE LA SECRECIÓN DE GLUCOSA

Se ha estudiado la salida de glucosa hacia el lumen intestinal perfundiendo en circuito cerrado un volumen de 10 ml de suero fisiológico a una velocidad de 3,5 ml/min.

En algunos experimentos se ha añadido floricina a una concentración de  $5 \times 10^{-4}$  M.

### 3.1.3.3. MEDICIÓN DE LOS CAMBIOS DE VOLUMEN

Para la determinación de los cambios de volumen del líquido de perfusión se ha utilizado como marcador  $^{14}$ C-PEG 4000 marcado isotópicamente con una actividad de 1,85 MBQ diluyendolo de manera que la actividad resultara de 0,63 MBQ/ml. Se han añadido 100  $\mu$ l de  $^{14}$ C-PEG4000 a 200 ml del líquido a perfundir y las muestras tomadas para realizar el conteo por centelleo líquido han sido de 100  $\mu$ l.

Para determinar la radiactividad se ha utilizado un líquido de centelleo formado por 15 g de PPO, 2 litros de tolueno y 1 litro de triton.

Los cambios de volumen se calculan por diferencia entre el volumen inicial y el final calculado este último a partir del volumen inicial multiplicado por PEGR, que representa la relación inicial/final de las c.p.m. de  $^{14}\text{C}$ -PEG 4000.

#### 3.1.4. EXPRESION DE LOS RESULTADOS

El azúcar absorbido por el intestino se ha determinado por diferencia entre la concentración del mismo en la solución antes de la perfusión y la remanente una vez ha sido perfundida. Estos resultados se han expresado en umoles referidos al area del trozo intestinal en  $\text{cm}^2$ . Para determinar esta area se ha utilizado una modificación del método descrito primero por VIDAL-SIVILLA (1950) y recogido por PONZ (1979) en el que se mide la "longitud fisiológica" al colgar un peso de 30 g del intestino separado del cuerpo y se ha multiplicado este valor por 0,6 que constituye un factor de corrección aplicable en estos casos y por la anchura del segmento abierto y distendido convenientemente.

Los resultados se expresan a su vez en función del tiempo de perfusión.

FIGURA 8

CORRELACION ENTRA LA SUPERFICIE DEL  
ASA INTESTINAL Y SU PESO SECO EN  
YEYUNO DE RATA

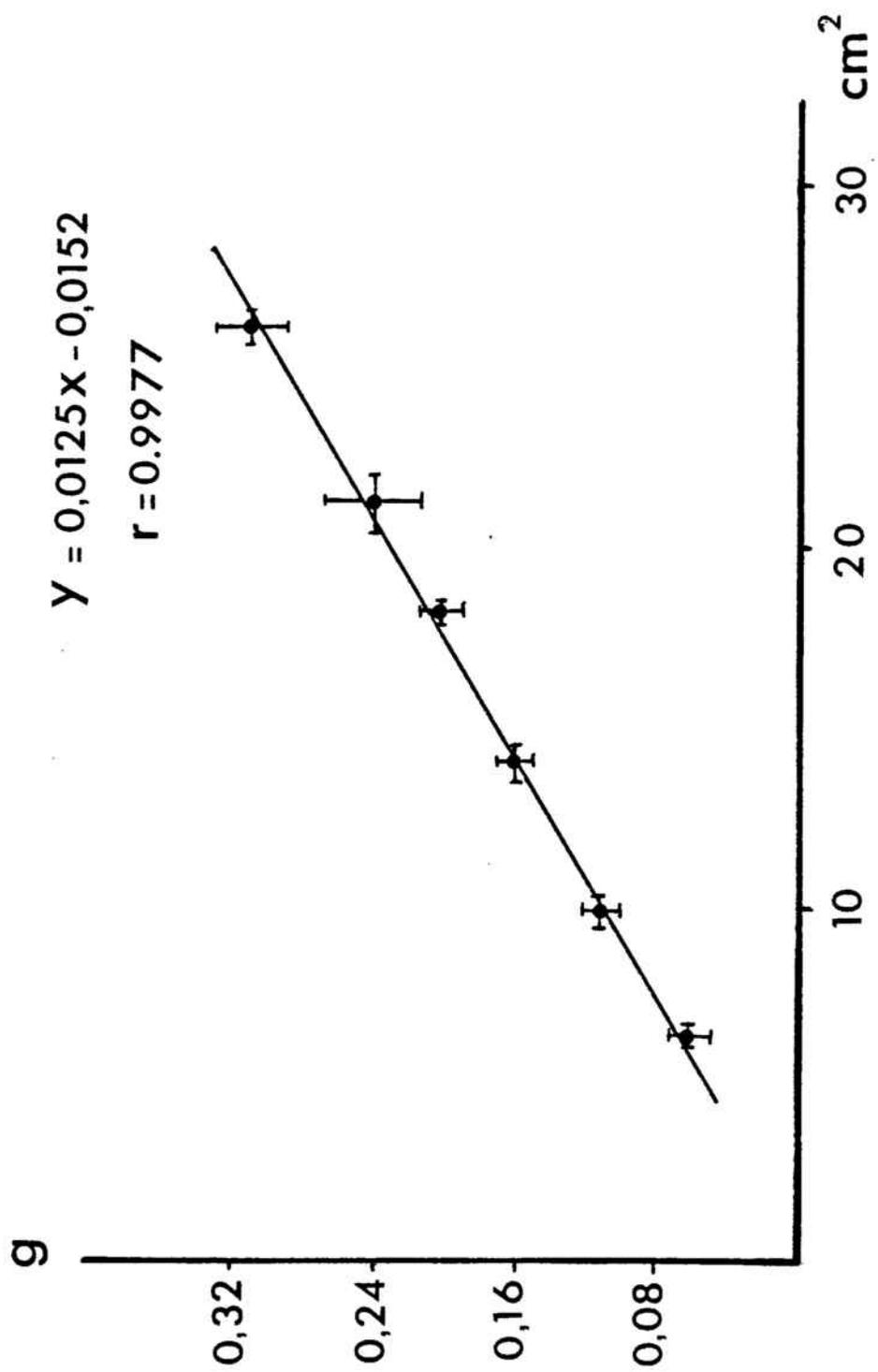
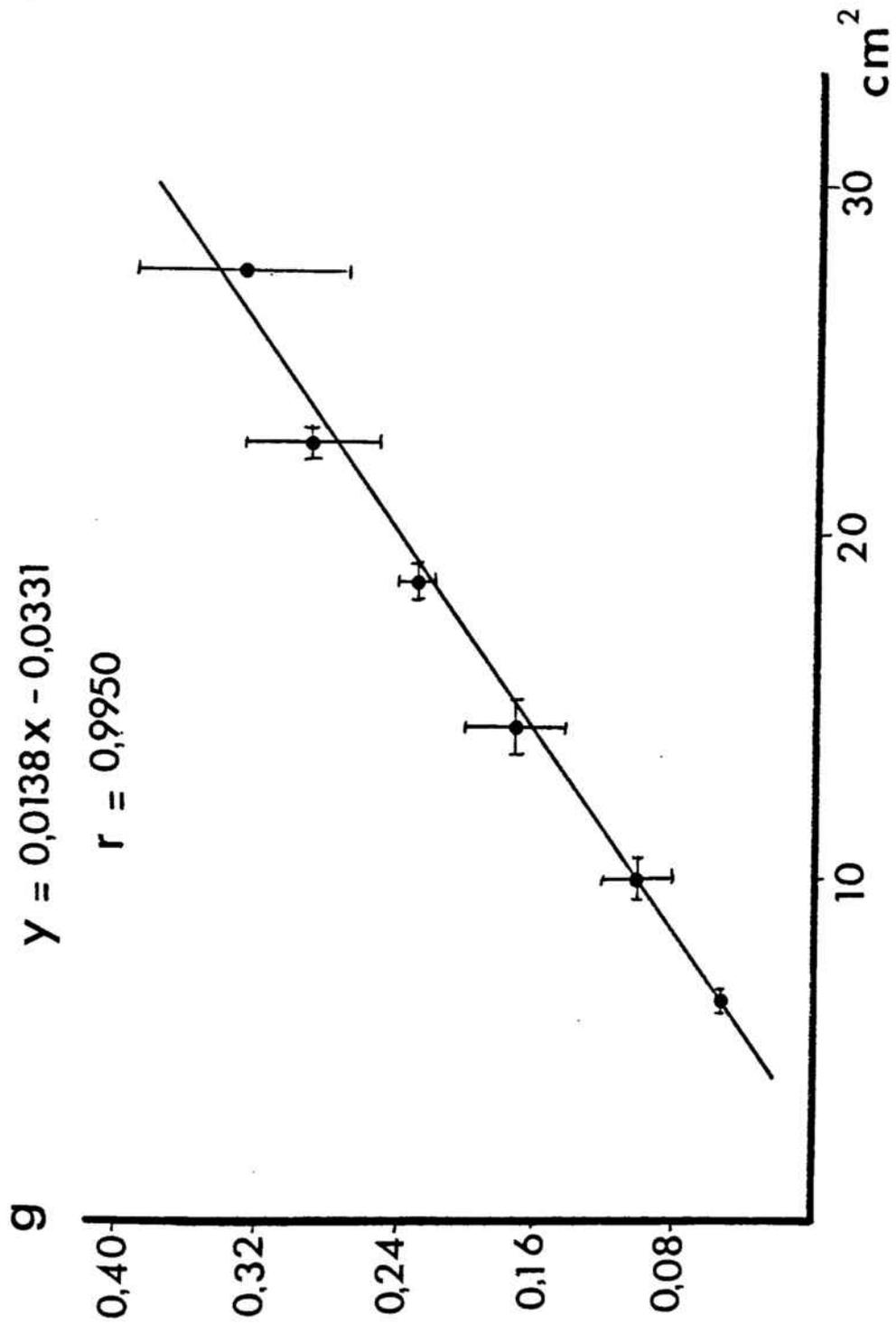


FIGURA 9

CORRELACION ENTRE LA SUPERFICIE DEL  
ASA INTESTINAL Y SU PESO SECO EN  
ILEON DE RATA



Se ha encontrado una correlación lineal entre el peso seco y la superficie en  $\text{cm}^2$  del segmento intestinal, expresada por las rectas de regresión que aparecen en las figuras 8 y 9 para el yeyuno y el ileon de rata respectivamente, independientemente de la edad de los animales utilizados permitiendo con ello expresar los resultados en función del peso seco o del area del segmento intestinal conocido uno de ellos.

### 3.2. DETERMINACION DEL AZUCAR

Se ha utilizado el método químico de SOMOGY (1945) basado en una reducción incompleta del azúcar al añadir un exceso de reactivo cúprico alcalino y determinando después la cantidad de óxido cúprico formado.

#### 3.2.1. REACTIVOS UTILIZADOS

##### a. Reactivo de SOMOGY (1945)

Un litro del reactivo contiene:

$\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .....	4 g
$\text{CO}_3\text{Na}_2$ .....	24 g
$\text{CO}_3\text{HNa}$ .....	16 g
Tartrato de sodio y potasio.....	12 g
$\text{SO}_4\text{Na}_2 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ .....	180 g

Estas sustancias se mezclan del siguiente modo:

El carbonato y el tartrato de sodio y potasio se disuelven en 250 ml de agua y sobre ellos se añade poco a poco el sulfato de cobre previamente disuelto en unos 50ml de agua. Una vez mezclados se agrega el bicarbonato. El sulfato de sodio se disuelve en 500 ml de agua caliente y se hierve para que expulse el aire. Una vez enfriada, se mezclan ambas soluciones y se completa el volumen a 1000 ml. Durante los primeros días sedimenta una ligera cantidad de óxido cuproso junto con impurezas de los componentes de la solución. Después de unos días se filtra obteniéndose un líquido transparente en el cual no tiene lugar ninguna reducción espontánea. Se guarda en frasco tapado a temperatura ambiente.

b. Reactivo de NELSON (1944)

Un litro de reactivo contiene:

Molibdato amónico.....	50 g
$\text{SO}_4\text{H}_2$ concentrado.....	42 ml
$\text{AsO}_4\text{HNa}_2 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .....	6 g

Para su preparación se disuelve el molibdato amónico en 900 ml de agua y se añade el sulfúrico agitando continuamente. Por otro lado se disuelve el ortoarseniato disódico

en 50 ml de agua y se mezclan ambas soluciones. Se completa el volumen a 1000 ml. Después de 48 horas a 37°C el reactivo puede ser utilizado. Se guarda en frasco tapado a temperatura ambiente.

### 3.2.2. PROCEDIMIENTO

Para la valoración colorimétrica del azúcar se ha de preparar una recta patrón, sobre la que se podrá determinar la concentración del problema por interpolación, realizándose cada día.

El azúcar se habrá diluido de acuerdo con su concentración inicial para que nos de un valor interpolable en la recta patrón.

Se lleva 1 ml de cada una de las soluciones diluidas de problema y de patrón a un tubo de ensayo - tres por solución -. En todos los tubos se adiciona 1 ml de reactivo de SOMOGY, se mezclan ambas soluciones agitando y se introducen en agua hirviendo durante diez minutos, transcurridos los cuales se dejan enfriar durante 5 minutos en agua fría. A continuación se añade 1 ml de reactivo de NELSON, se agita hasta que no se desprendan gases y se adicionan 5 ml de agua destilada, agitándose de nuevo hasta conseguir una

coloración homogénea a lo largo del tubo. El color permanece estable durante horas.

Las lecturas se han realizado en un espectrofotómetro Beckman DB-G a una longitud de onda de 610 milimicras.

### 3.3. DETERMINACION DEL ION SODIO

Se ha determinado la concentración de sodio de las soluciones antes y después de la perfusión del intestino utilizando un espectrómetro de llama Corning 400. Se han preparado patrones de cloruro de sodio conteniendo 10 y 200 meq/l de ion sodio y las muestras se han diluido de manera que la lectura estuviera comprendida dentro de la escala del aparato. Los resultados se han expresado como  $\text{mM}/\text{cm}^2$  de superficie del segmento intestinal.

### 3.4. OBSERVACIONES ELECTROMICROSCOPICAS

Se ha procedido a la observación en el microscopio electrónico de los enterocitos tanto de yeyuno como de ileon en los tres grupos de animales de edades diferentes, dando especial importancia a la determinación de la longitud de las microvellosidades.

Para la preparación de las muestras se han anestesiado los animales con uretano en la forma usual, realizando a continuación una laparatomía y aislando yeyuno e ileon. Se abre longitudinalmente una zona del intestino no superior a 1 cm y se fija con glutaraldehído para microscopía electrónica al 2,5% en tampón fosfatos de pH 7,35 por goteo durante una hora y media a temperatura ambiente. Con un bisturí se corta, una vez se ha endurecido el segmento, una porción no mayor a 0,1-0,2 cm<sup>2</sup> y se procede a lavar la misma con tampón fosfatos 0,2 M que se va cambiando sucesivamente las dos primeras horas, dejándose por último toda la noche en la solución tampón a temperatura ambiente. Al día siguiente está lista la muestra para la realización de los cortes.

## 4. RESULTADOS

#### 4.1. INFLUENCIA DE LA EDAD EN LA ABSORCIÓN DE D-GLUCOSA POR YEYUNO DE RATA "IN VIVO".

La cinética de la absorción de D-Glucosa ha sido estudiada en los tres grupos de animales de edades diferentes para lo cual se han perfundido distintas concentraciones del azúcar (2,5 - 5 - 10 - 20 y 40 mM) durante cinco minutos en circuito abierto, observándose un aumento de la absorción con cantidades crecientes de D-Glucosa (TABLAS II, III y IV).

Se ha estudiado la absorción total del azúcar así como el componente de difusión y de transporte activo. Para ver cuanto azúcar se ha transportado por difusión se ha procedido a inhibir el transporte activo mediante un inhibidor específico del mismo, la floricina a una concentración de  $5 \times 10^{-4}$  M añadida a la solución a perfundir. Representando la cantidad de glucosa total absorbida y la que se absorbe por difusión expresada como  $\mu$ moles absorbidos por  $\text{cm}^2$  de intestino durante cinco minutos, en función de la concentración del azúcar en el medio de perfusión obtenemos la curva representativa de la cinética del transporte, pudiendo restar la que corresponde a difusión del transporte total y obteniendo el azúcar transportado activamente (Fig. 10, 11 y 12) para las tres edades de nuestro estudio. Comparando la absorción en los tres grupos vemos que es en las ratas más jóvenes (21-23 días) en las que la absorción es mayor tanto por transporte activo como por difusión (Fig.13).

GLUCOSA mM	$\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$		
	-	Floricina $5 \times 10^{-4} \text{ M}$	Diferencia
2,5	$0,30 \pm 0,04^*$ (10)**	$0,12 \pm 0,06$ (4)	0,18
5	$0,82 \pm 0,07$ (13)	$0,33 \pm 0,11$ (5)	0,49
10	$1,61 \pm 0,15$ (8)	$0,81 \pm 0,15$ (4)	0,80
20	$2,73 \pm 0,38$ (7)	$1,80 \pm 0,16$ (4)	0,93
40	$4,94 \pm 0,49$ (6)	$3,50 \pm 0,69$ (8)	1,44

TABLA II

ABSORCION DE GLUCOSA POR YEYUNO DE RATA DE 21-23 DIAS MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS Y EFECTO DE LA FLORICINA.

\* valor medio  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

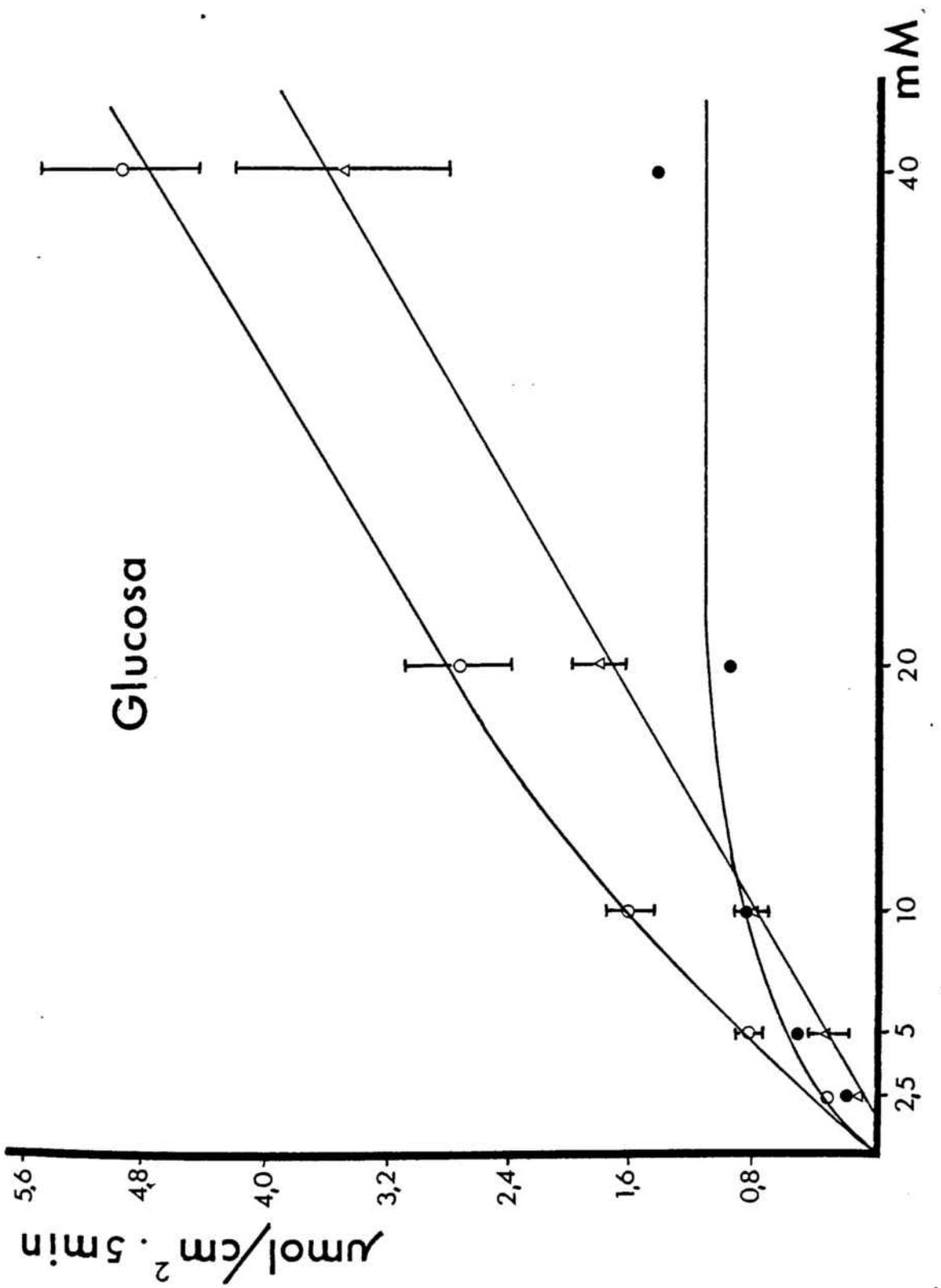
FIGURA 10

CINETICA DE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA POR  
YEYUNO DE RATA DE 21-23 DIAS, "IN VIVO".

- Transporte total
- △ Transporte por difusión
- Transporte activo

cada punto representa la media  $\pm$  el error  
estándar.

# Glucosa



GLUCOSA mM	$\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$		
	-	Floricina $5 \times 10^{-4} \text{ M}$	Diferencia
2,5	$0,27 \pm 0,01^*$ (16)**	$0,08 \pm 0,02$ (7)	0,19
5	$0,39 \pm 0,02$ (6)	$0,15 \pm 0,01$ (4)	0,24
10	$0,71 \pm 0,06$ (14)	$0,36 \pm 0,06$ (6)	0,35
20	$0,95 \pm 0,10$ (5)	$0,54 \pm 0,08$ (4)	0,41
40	$1,89 \pm 0,16$ (12)	$1,44 \pm 0,10$ (7)	0,45

TABLA III

ABSORCION DE GLUCOSA POR YEYUNO DE RATA DE 2-3 MESES MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS Y EFECTO DE LA FLORICINA.

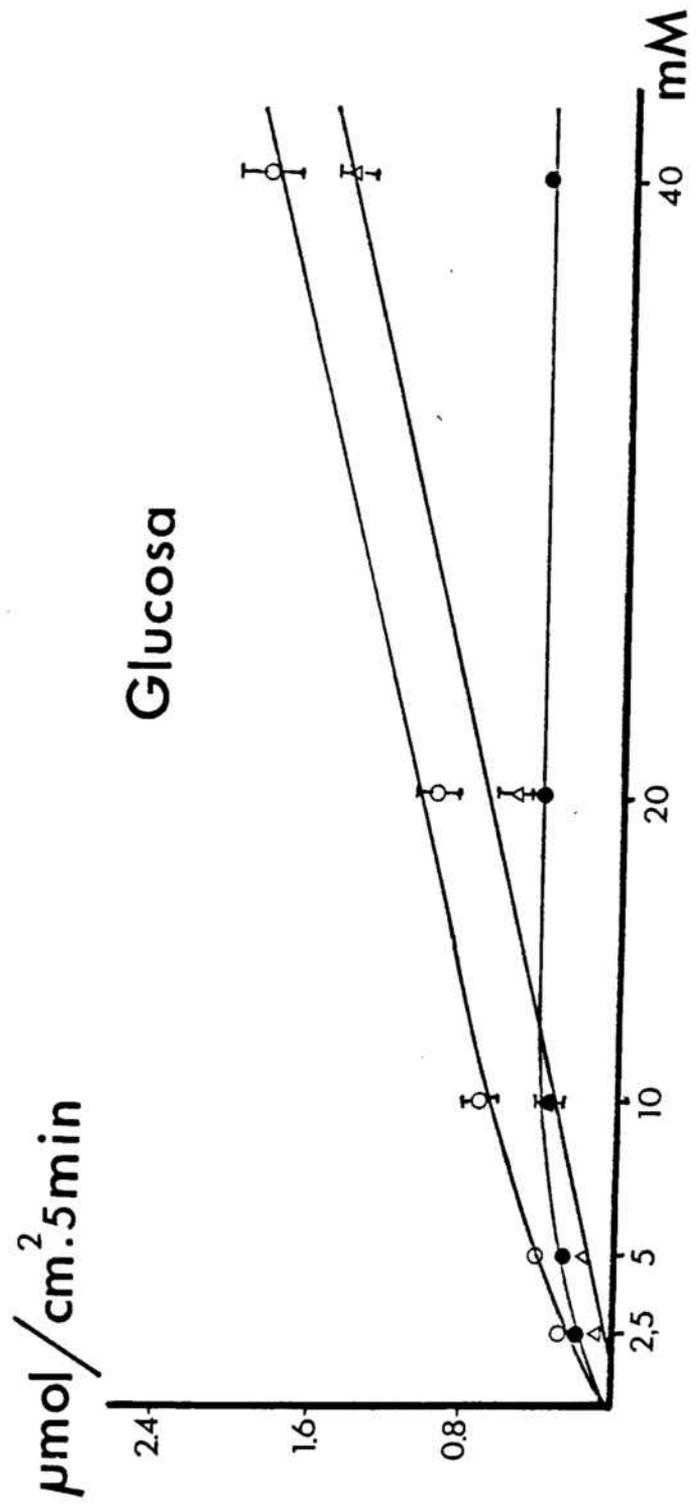
- \* valor medio  $\pm$  error estándar
- \*\* número de animales

FIGURA 11

CINETICA DE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA POR  
YEYUNO DE RATA DE 2-3 MESES, "IN VIVO".

- Transporte total
- △ Transporte por difusión
- Transporte activo

cada punto representa la media  $\pm$  el error  
estándar.



GLUCOSA mM	$\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$		
	-	Floricina $5 \times 10^{-4} \text{M}$	Diferencia
2,5	$0,16 \pm 0,03^*$ (5)**	$0,06 \pm 0,01$ (4)	0,10
5	$0,25 \pm 0,06$ (6)	$0,08 \pm 0,01$ (4)	0,17
10	$0,33 \pm 0,02$ (7)	$0,21 \pm 0,07$ (4)	0,12
20	$0,83 \pm 0,15$ (5)	$0,62 \pm 0,19$ (4)	0,21
40	$1,56 \pm 0,34$ (6)	$1,36 \pm 0,43$ (4)	0,20

TABLA IV

ABSORCION DE GLUCOSA POR YEYUNO DE RATA DE 18 MESES MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS Y EFECTO DE LA FLORICINA.

\* valor medio  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

FIGURA 12

CINETICA DE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA POR  
YEYUNO DE RATA DE 18 MESES, "IN VIVO".

- Transporte total
- △ Transporte por difusión
- Transporte activo

cada punto representa la media  $\pm$  el error  
estándar.

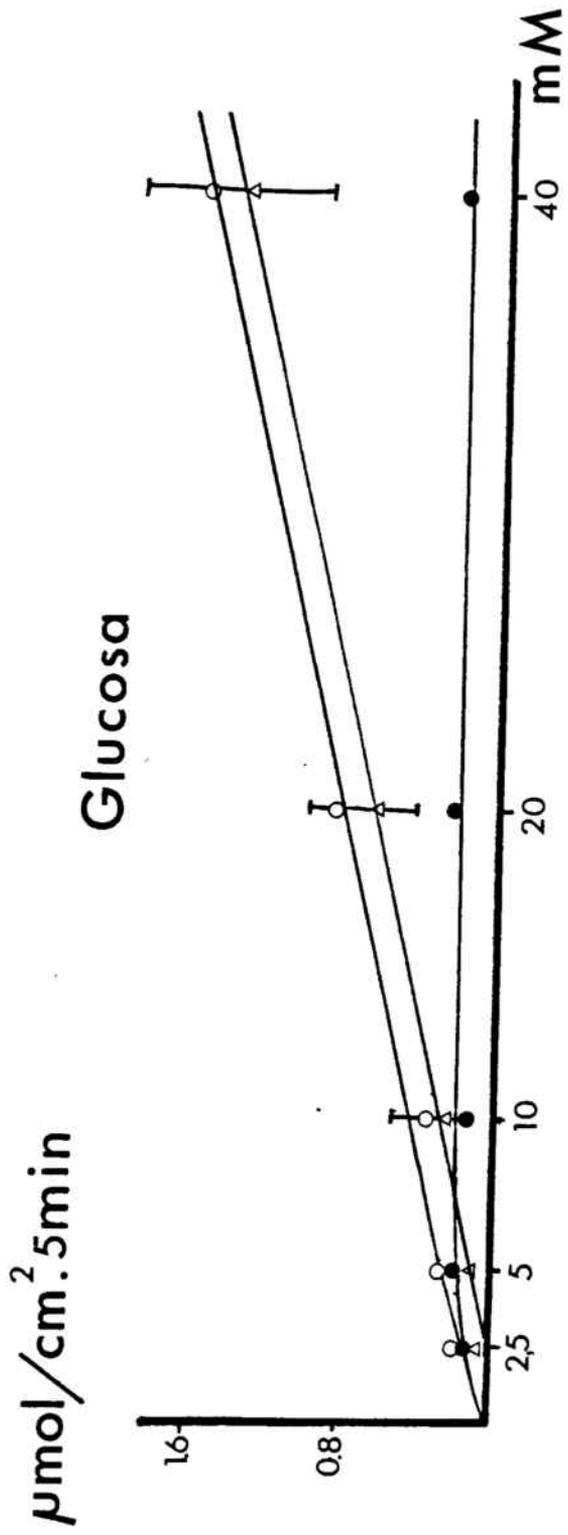
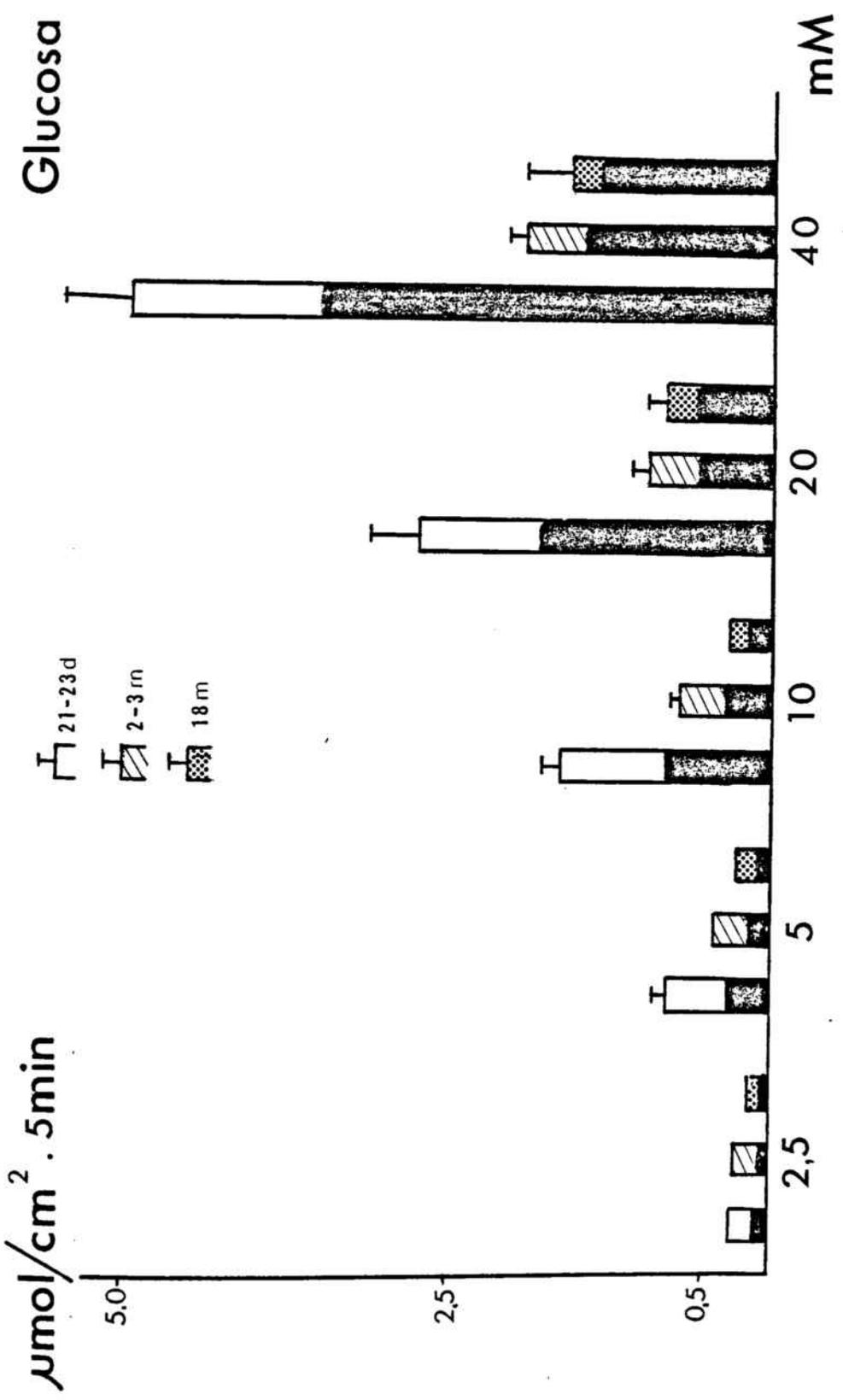


FIGURA 13

ABSORCION TOTAL DE D-GLUCOSA POR YEYUNO  
DE RATA DE DIFERENTES EDADES

Valores medios  $\pm$  error estándar

Las barras negras representan el componente  
de difusión.



La D-Glucosa absorbida por difusión nos da una recta de regresión (TABLA V) y la pendiente de esta recta permite calcular la constante de difusión. Se ha observado una mayor absorción por difusión en el grupo de menor edad expresado por una constante de difusión más elevada que en los dos grupos restantes.  $K_d = 0.0907$  para las ratas de 21-23 días comparada con  $K_d = 0,0356$  en las de 2-3 meses y  $K_d = 0,0358$  en las de 18 meses.

#### 4.2. INFLUENCIA DE LA EDAD EN LA ABSORCIÓN DE D-GLUCOSA POR ILEON DE RATA "IN VIVO".

Los valores de la absorción se recogen en las TABLAS VI, VII y VIII para las tres edades, respectivamente. La difusión es superior en ratas de 21-23 días ( $K_d = 0,0858$ ) y decrece considerablemente con la edad, 2-3 meses ( $K_d = 0,0195$ ) y 18 meses ( $K_d = 0.0159$ ) (TABLA IX).

Los resultados de absorción total de la D-Glucosa por ileon de rata son inferiores a los correspondientes al yeyuno en los tres grupos estudiados.

En las figuras 14, 15 y 16 se representa la cinética de la absorción de D-Glucosa por ileon de rata de 21-23 días, 2-3 meses y 18 meses respectivamente.

EDAD	RECTA DE REGRESION	r	$K_D$
21-23 días	$Y = 0,0907 x - 0,0942$	0,9994	0,0907
2-3 meses	$Y = 0,0356 x - 0,0379$	0,9902	0,0356
18 meses	$Y = 0,0358 x - 0,0898$	0,9969	0,0358

TABLA V

COMPONENTE DE DIFUSION DE LA ABSORCION DE GLUCOSA POR YEYUNO DE RATA MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO.

GLUCOSA mM	$\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$		
	-	Floricina $5 \times 10^{-4} \text{ M}$	Diferencia
2,5	$0,44 \pm 0,10^*$ (7)**	$0,16 \pm 0,07$ (8)	0,28
5	$0,68 \pm 0,07$ (8)	$0,28 \pm 0,04$ (8)	0,40
10	$1,65 \pm 0,43$ (6)	$0,51 \pm 0,15$ (6)	1,15
20	$2,70 \pm 0,56$ (6)	$1,40 \pm 0,19$ (4)	1,30
40	$5,03 \pm 0,95$ (6)	$3,32 \pm 0,41$ (5)	1,71

TABLA VI

ABSORCION DE GLUCOSA POR ILEON DE RATA DE 21-23 DIAS MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS Y EFECTO DE LA FLORICINA.

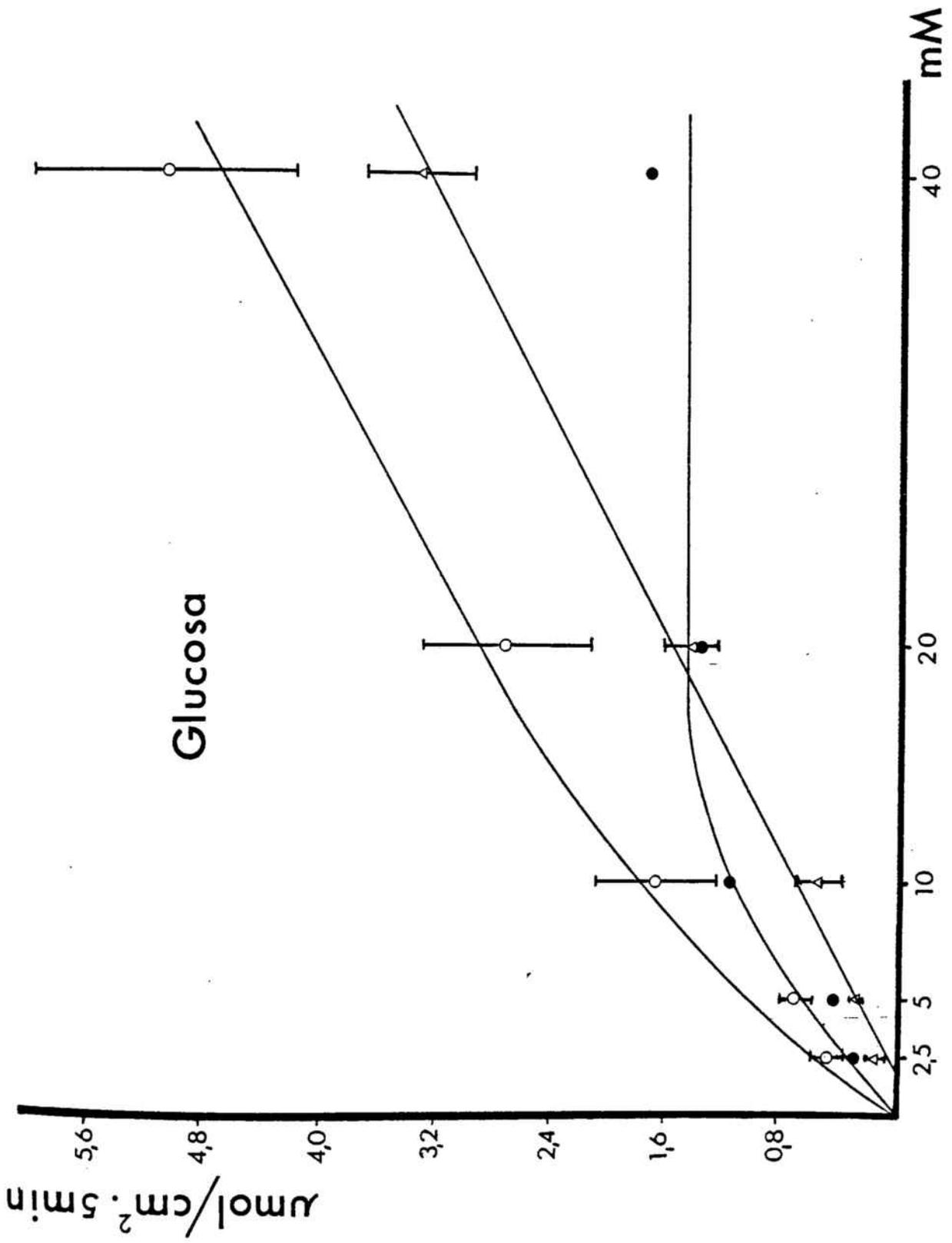
- \* valor medio  $\pm$  error estándar
- \*\* número de animales

FIGURA 14

CINETICA DE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA POR  
ILEON DE RATA DE 21-23 DIAS, "IN VIVO".

- Transporte total
- △ Transporte por difusión
- Transporte activo

cada punto representa la media  $\pm$  el error  
estándar.



GLUCOSA mM	$\mu\text{mol/cm}^2/5 \text{ min.}$		
	-	Floricina $5 \times 10^{-4} \text{ M}$	Diferencia
2,5	$0,18 \pm 0,02^*$ (6)**	$0,13 \pm 0,05$ (4)	0,05
5	$0,35 \pm 0,06$ (6)	$0,16 \pm 0,05$ (6)	0,19
10	$0,55 \pm 0,10$ (5)	$0,30 \pm 0,10$ (5)	0,25
20	$1,01 \pm 0,07$ (6)	$0,62 \pm 0,07$ (6)	0,39
40	$1,30 \pm 0,34$ (4)	$0,83 \pm 0,34$ (4)	0,53

TABLA VII

ABSORCION DE GLUCOSA POR ILEON DE RATA DE 2-3 MESES MEDIANTE PERFUSION IN VIVO CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS Y EFECTO DE LA FLORICINA.

\* valor medio  $\pm$  error estándar

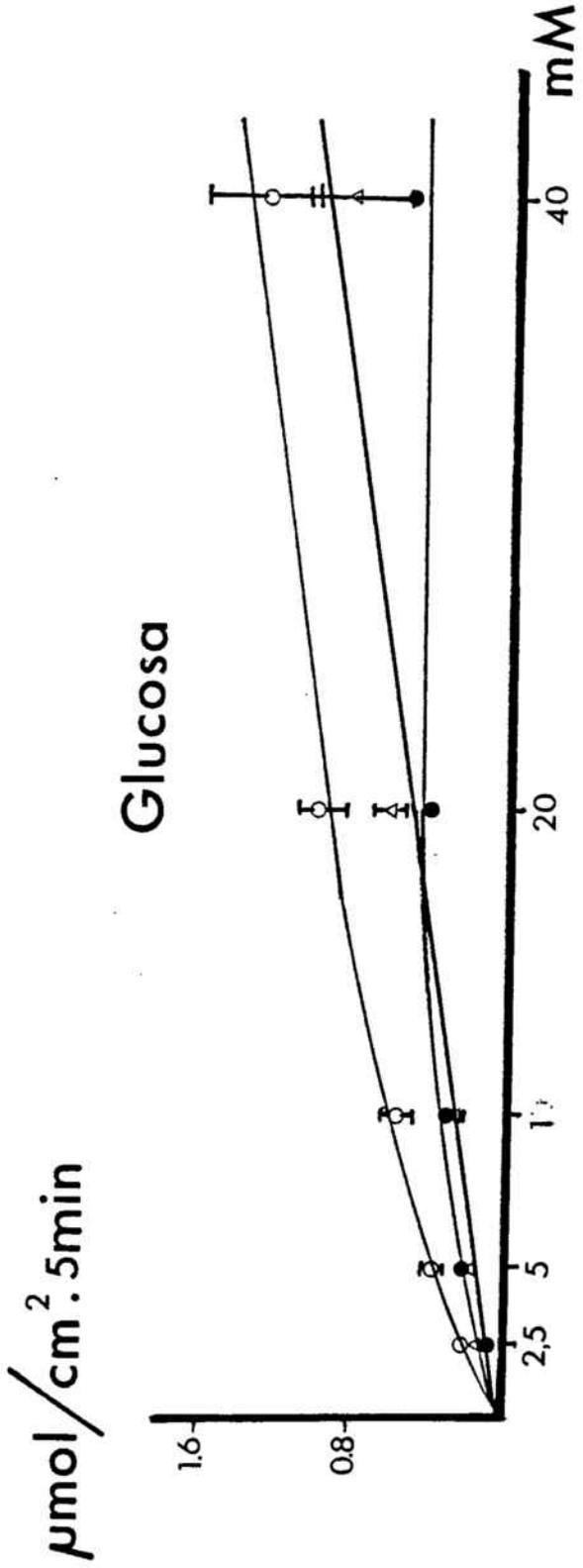
\*\* número de animales

FIGURA 15

CINETICA DE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA POR  
ILEON DE RATA DE 2-3 MESES, "IN VIVO".

- Transporte total
- △ Transporte por difusión
- Transporte activo

cada punto representa la media  $\pm$  el error  
estándar.



GLUCOSA mM	$\mu\text{mol/cm}^2/5\text{ min.}$		
	-	Floricina $5 \times 10^{-4}\text{M}$	Diferencia
2,5	$0,15 \pm 0,02^*$ (5)**	$0,08 \pm 0,01$ (5)	0,07
5	$0,27 \pm 0,04$ (6)	$0,11 \pm 0,04$ (3)	0,16
10	$0,42 \pm 0,08$ (5)	$0,17 \pm 0,07$ (4)	0,25
20	$0,67 \pm 0,07$ (6)	$0,28 \pm 0,10$ (4)	0,39
40	$1,22 \pm 0,19$ (6)	$0,68 \pm 0,19$ (5)	0,54

TABLA VIII

ABSORCION DE GLUCOSA POR ILEON DE RATA DE 18 MESES MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS Y EFECTO DE LA FLORICINA.

- \* valor medio  $\pm$  error estándar
- \*\* número de animales

FIGURA 16

CINETICA DE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA POR  
ILEON DE RATA DE 18 MESES, "IN VIVO".

- Transporte total
- △ Transporte por difusión
- Transporte activo

cada punto representa la media  $\pm$  el error  
estándar.

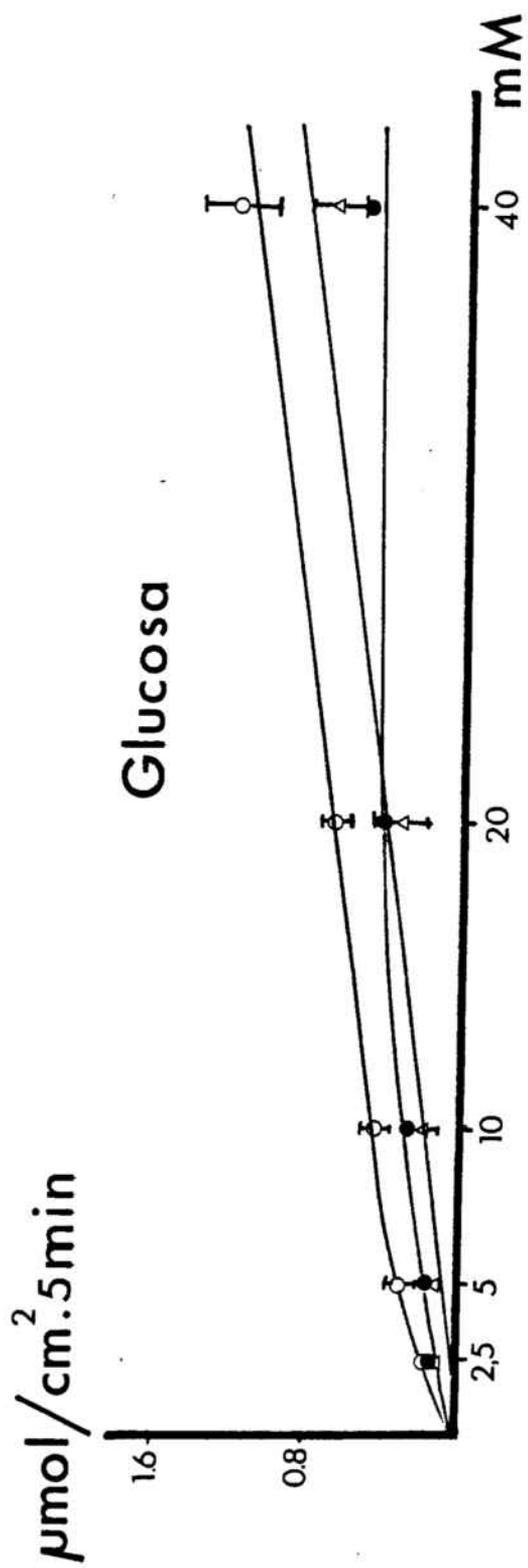
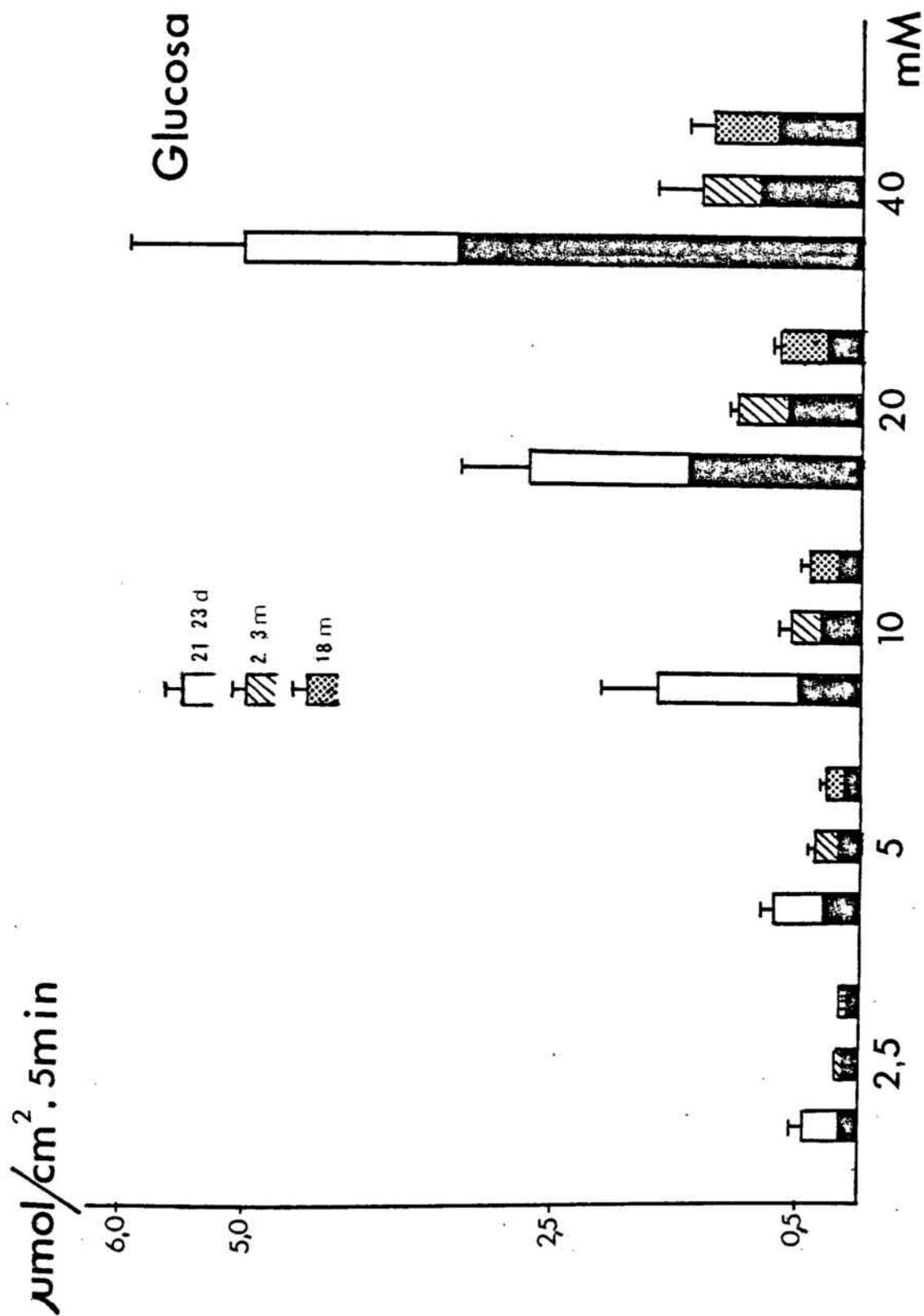


FIGURA 17

ABSORCION TOTAL DE D-GLUCOSA POR ILEON  
DE RATA DE DIFERENTES EDADES

Valores medios  $\pm$  error estándar

Las barras negras representan el compo-  
nente de difusión.



EDAD	RECTA DE REGRESION	r	K <sub>D</sub>
21-23 días	$y = 0,0858 x - 0,1963$	0,9952	-0,0858
2-3 meses	$y = 0,0195 x + 0,1063$	0,9715	0,0195
18 meses	$y = 0,0159 x + 0,0175$	0,9905	0,0159

TABLA IX

COMPONENTE DE DIFUSION DE LA ABSORCION DE GLUCOSA POR ILEON DE RATA MEDINATE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO.

EDADES	YEYUNO	ILEON
21-23 días ↔ 2-3 meses	p < 0,01	p < 0,01
21-23 días ↔ 18 meses	p < 0,01	p < 0,01
2-3 meses ↔ 18 meses	n.s.	n.s.

TABLA X

COMPARACION ENTRE LAS RECTAS DE REGRESION REPRESENTATIVAS DEL COMPONENTE DE DIFUSION DE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA A DIFERENTES EDADES "IN VIVO".

#### 4.3. INFLUENCIA DE LA EDAD EN LA ABSORCION DE D-GALACTOSA POR YEYUNO DE RATA "IN VIVO".

Se ha procedido al mismo estudio cinético que para el caso de la D-Glucosa y los resultados obtenidos expresados como umoles de D-Galactosa absorbidos por  $\text{cm}^2$  durante 5 minutos aparecen en las TABLAS XI, XII y XIII, correspondiendo las figuras 18,19 y 20 a la cinética de la absorción por yeyuno de ratas de 21-23 días, 2-3 meses y 18 meses respectivamente.

Se observa un mayor transporte total a los 21-23 días (Fig. 21) así como en lo que se refiere a la difusión que es mayor en las ratas de menor edad ( $K_d = 0,0744$ ) y decrece al alcanzar la edad adulta, siendo su coeficiente de difusión en las ratas de 2-3 meses  $K_d = 0,0395$  y en las de 18 meses  $K_d = 0,0254$  (TABLA XIV). Las rectas de regresión del componente de difusión son significativamente distintas para las tres edades estudiadas (TABLA XV).

#### 4.4. INFLUENCIA DE LA EDAD EN LA ABSORCION DE L-ARABINOSA POR YEYUNO DE RATA "IN VIVO"

Se ha estudiado la absorción de un azúcar, la L-Arabinosa, que sólo atraviesa la mucosa intestinal por difusión, siguiendo un gradiente de concentración, con el fin de comprobar si la absorción de este azúcar varía con la edad.

GALACTOSA mM	$\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$		
	-	Floricina $5 \times 10^{-4} \text{ M}$	Diferencia
2,5	$0,34 \pm 0,06$ * (8) **	$0,22 \pm 0,06$ (8)	0,12
5	$0,80 \pm 0,11$ (6)	$0,35 \pm 0,12$ (6)	0,45
10	$1,14 \pm 0,14$ (7)	$0,65 \pm 0,15$ (7)	0,49
20	$2,16 \pm 0,44$ (6)	$1,50 \pm 0,36$ (4)	0,66
40	$3,60 \pm 0,53$ (8)	$2,96 \pm 0,18$ (4)	0,64

TABLA XI

ABSORCION DE GALACTOSA POR YEYUNO DE RATA DE 21-23 DIAS MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS Y EFECTO DE LA FLORICINA.

\* valor medio  $\pm$  error estándar

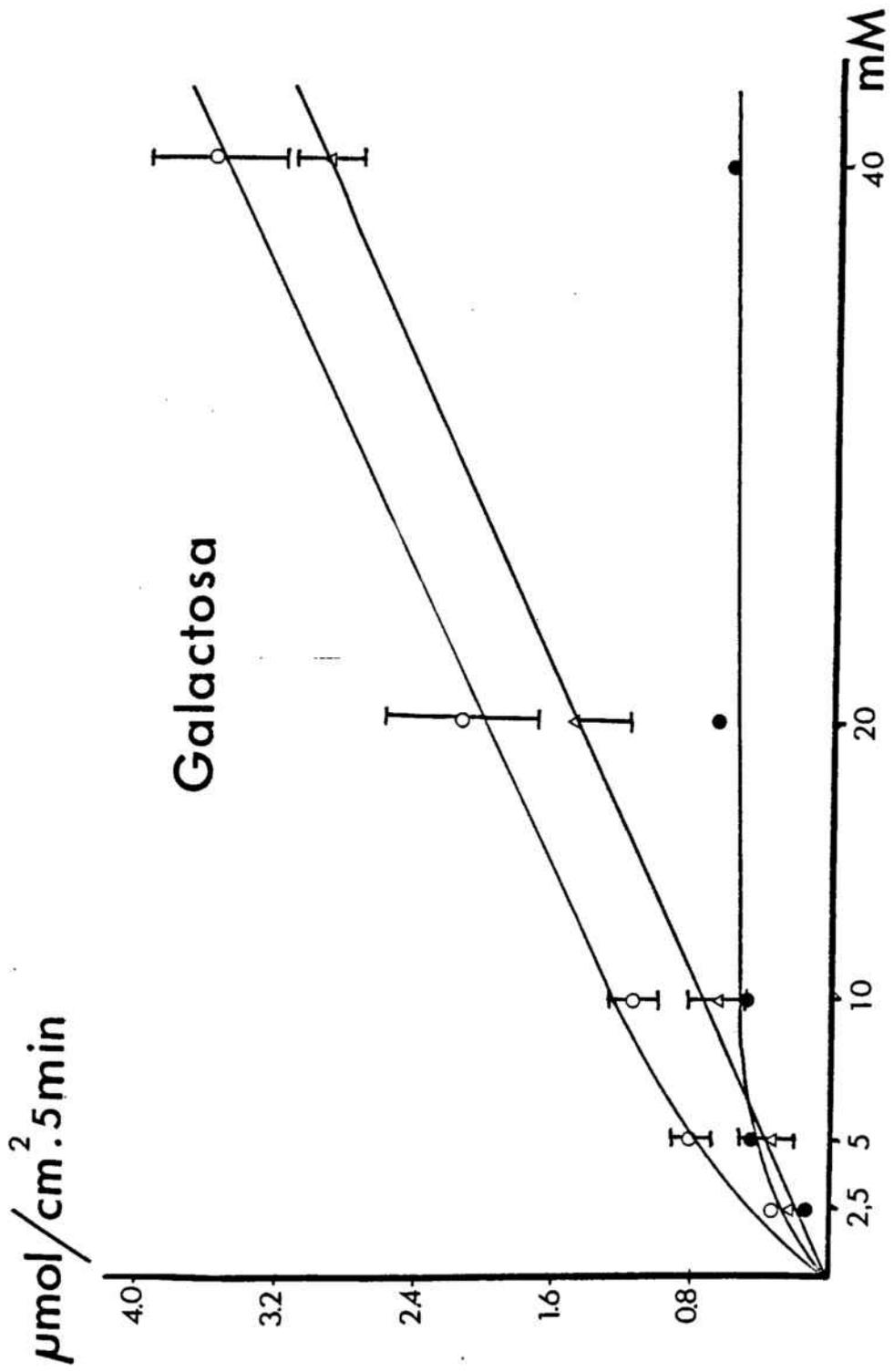
\*\* número de animales

FIGURA 18

CINETICA DE LA ABSORCION DE GALACTOSA POR  
YEYUNO DE RATA DE 21-23 DIAS, "IN VIVO".

- Transporte total
- △ Transporte por difusión
- Transporte activo

cada punto representa la media  $\pm$  el error  
estándar.



GALACTOSA mM	$\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$		
	-	Floricina $5 \times 10^{-4} \text{ M}$	Diferencia
2,5	$0,17 \pm 0,01^*$ (11)**	$0,07 \pm 0,01$ (8)	0,10
5	$0,24 \pm 0,03$ (5)	$0,13 \pm 0,02$ (4)	0,11
10	$0,72 \pm 0,06$ (8)	$0,33 \pm 0,04$ (8)	0,39
20	$1,05 \pm 0,09$ (10)	$0,68 \pm 0,04$ (5)	0,37
40	$1,95 \pm 0,20$ (7)	$1,54 \pm 0,20$ (7)	0,41

TABLA XII

ABSORCION DE GALACTOSA POR YEYUNO DE RATA DE 2-3 MESES MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS Y EFECTO DE LA FLORICINA.

\* valor medio  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

FIGURA 19

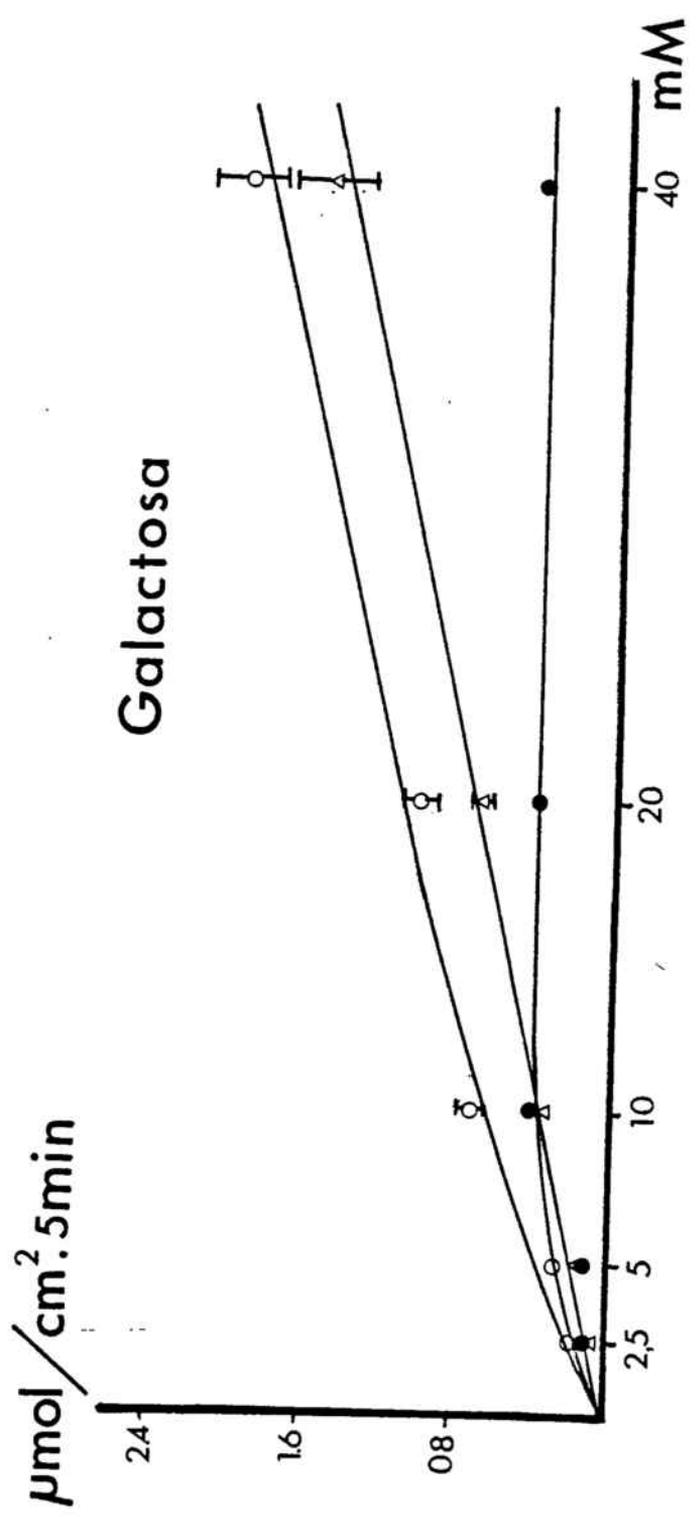
CINETICA DE LA ABSORCION DE GALACTOSA POR  
YEYUNO DE RATA DE 2-3 MESES, "IN VIVO".

○ Transporte total

△ Transporte por difusión

● Transporte activo

cada punto representa la media  $\pm$  el error  
estándar.



GALACTOSA mM	$\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$		
	-	Floricina $5 \times 10^{-4} \text{ M}$	Diferencia
2,5	$0,15 \pm 0,03^*$ (6)**	$0,06 \pm 0,02$ (4)	0,09
5	$0,23 \pm 0,02$ (6)	$0,13 \pm 0,04$ (5)	0,10
10	$0,51 \pm 0,11$ (6)	$0,32 \pm 0,06$ (5)	0,19
20	$0,71 \pm 0,13$ (6)	$0,51 \pm 0,14$ (6)	0,20
40	$1,21 \pm 0,26$ (4)	$1,03 \pm 0,16$ (4)	0,19

TABLA XIII

ABSORCION DE GALACTOSA POR YEYUNO DE RATA DE 18 MESES MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS Y EFECTO DE LA FLORICINA.

\* valor medio  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

FIGURA 20

CINETICA DE LA ABSORCION DE GALACTOSA POR  
YEYUNO DE RATA DE 18 MESES, "IN VIVO".

○ Transporte total

△ Transporte por difusión

● Transporte activo

cada punto representa la media  $\pm$  el error  
estándar.

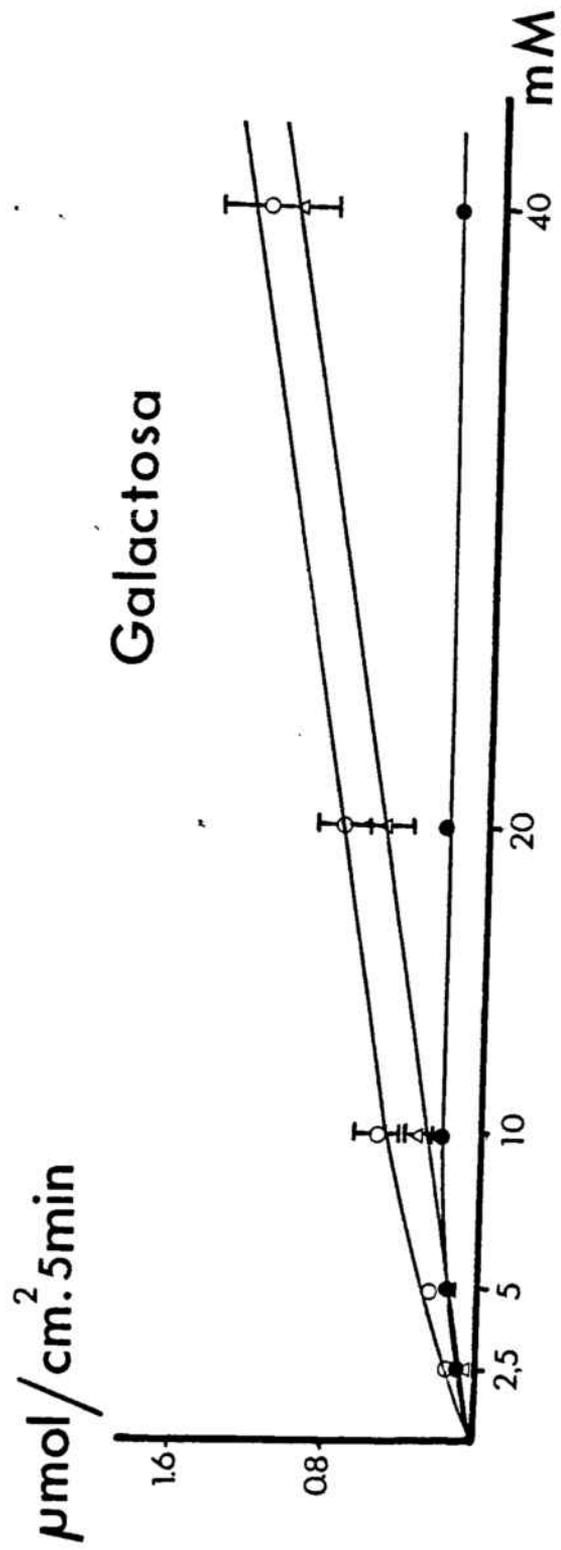
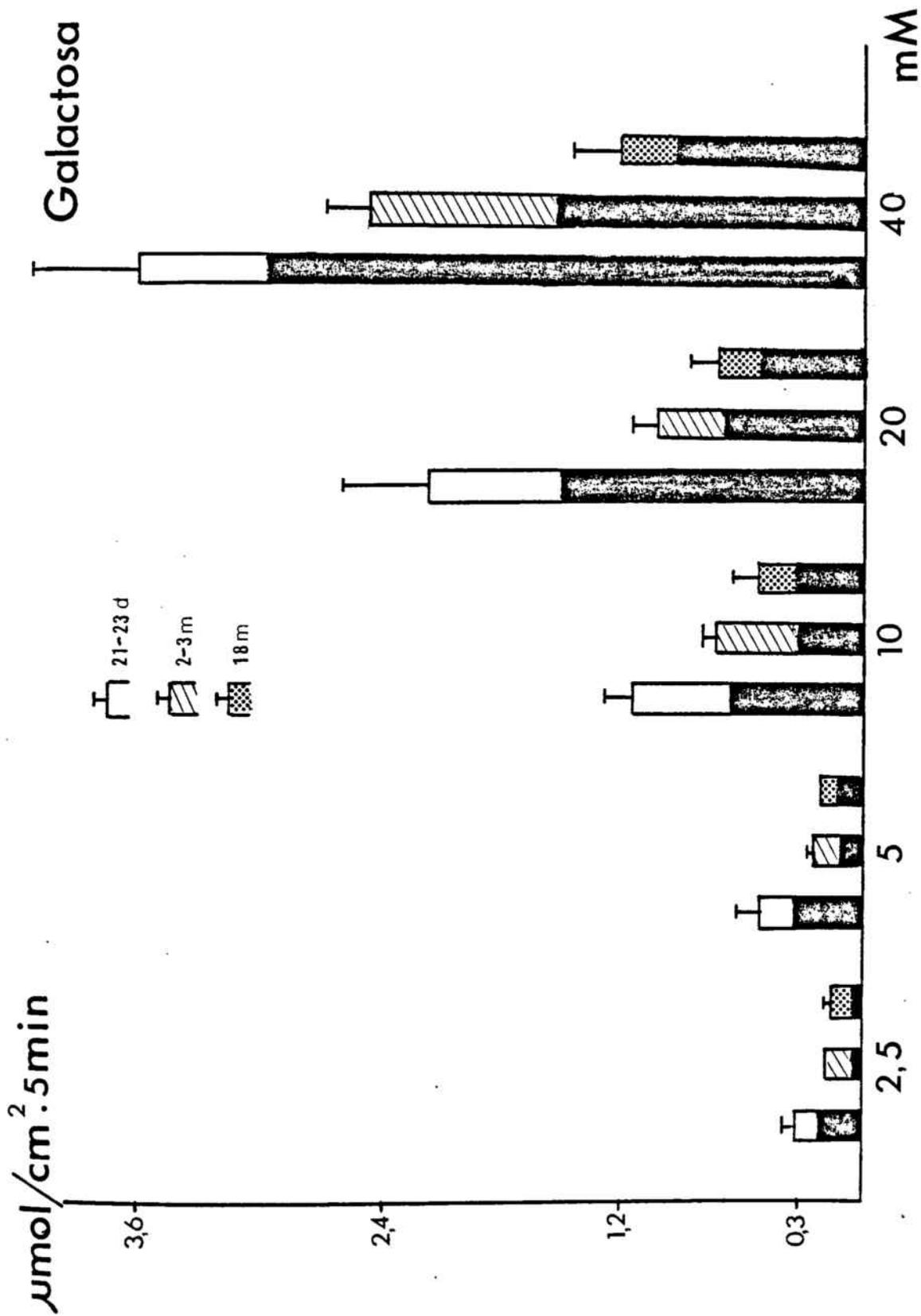


FIGURA 21

ABSORCION TOTAL DE D-GALACTOSA POR YEYUNO  
DE RATA DE DIFERENTES EDADES

Valores medios  $\pm$  error estándar

Las barras negras representan el componente  
de difusión.



EDAD	RECTA DE REGRESION	r	K <sub>D</sub>
21-23 días	$Y = 0,0744 x - 0,0167$	0,991	0,0744
2-3 meses	$Y = 0,0395 x - 0,0617$	0,9986	0,0395
18 meses	$Y = 0,0254 x + 0,0163$	0,9973	0,0254

TABLA XIV

COMPONENTE DE DIFUSION DE LA ABSORCION DE GALACTOSA POR YEYUNO DE RATA MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO.

EIDADES	SIGNIFICACION
21-23 días ↔ 2-3 meses	p < 0,05
21-23 días ↔ 18 meses	p < 0,05
2-3 meses ↔ 18 meses	p < 0,05

TABLA XV

COMPARACION ENTRE LAS RECTAS DE REGRESION REPRESENTATIVAS DEL COMPONENTE DE DIFUSION DE LA ABSORCION DE D-GALACTOSA, A DIFERENTES EIDADES, POR YEYUNO DE RATA "IN VIVO".

Para la L-Arabinosa se ha observado que las ratas de menor edad (21-23 días) son las que presentan una absorción mayor (TABLA XVI) y que una vez llegan a la edad adulta se estabiliza (TABLAS XVII y XVIII y Fig. 22).

Han sido calculadas las constantes de difusión del azúcar, definidas como la pendiente de la recta de regresión obtenida al representar el azúcar absorbido frente a las concentraciones en el líquido de perfusión (Fig. 23). En la TABLA XIX aparecen dichas constantes que son  $K_d = 0,0911$  para el grupo de 21-23 días,  $K_d = 0,0276$  para el de 2-3 meses y  $K_d = 0,0361$  para las de 18 meses. Las rectas de regresión son significativamente distintas ( $p < 0,05$ ) (TABLA XX)

#### 4.5. EFECTO DEL ION SODIO SOBRE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA

##### 4.5.1. EFECTO DEL ION SODIO SOBRE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA POR YEYUNO DE RATA DE DIFERENTES EDADES

Se ha estudiado la absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata mediante perfusión con recirculación del líquido durante veinte minutos, tomándose muestras a los tiempos: 1 - 5 - 10 y 20 minutos. El ion sodio ha sido sustituido parcial o totalmente por Tris-HCl de manera que la concentración del mismo en el líquido de perfusión fuera: 154 - 77 - 38,5 y 0 meq/l.

ARABINOSA mM	$\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$
2,5	0,22 $\pm$ 0,05* (7)**
5	0,49 $\pm$ 0,09 (5)
10	1,07 $\pm$ 0,05 (5)
20	1,87 $\pm$ 0,33 (5)
40	3,72 $\pm$ 0,35 (5)

TABLA XVI

ABSORCION DE ARABINOSA POR YEYUNO DE RATA DE 21-23 DIAS MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS.

\* valor medio  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

ARABINOSA mM	$\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$
2,5	0,05 $\pm$ 0,01* (4)**
5	0,18 $\pm$ 0,03 (6)
10	0,36 $\pm$ 0,04 (4)
20	0,62 $\pm$ 0,13 (8)
40	1,12 $\pm$ 0,13 (6)

TABLA XVII

ABSORCION DE ARABINOSA POR YEYUNO DE RATA DE 2-3 MESES MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN PERIODOS DE 5 MINUTOS.

\* valor medio  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

ARABINOSA mM	$\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$
2,5	0,07 $\pm$ 0,01* (5)**
5	0,10 $\pm$ 0,01 (5)
10	0,36 $\pm$ 0,13 (4)
20	0,83 $\pm$ 0,21 (7)
40	1,38 $\pm$ 0,27 (5)

TABLA XVIII

ABSORCION DE ARABINOSA POR YEYUNO DE RATA DE 18 MESES  
 MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO ABIERTO EN  
 PERIODOS DE 5 MINUTOS.

\* valor medio  $\pm$  error estándar  
 \*\* número de animales

FIGURA 22

ABSORCION DE L-ARABINOSA POR YEYUNO  
DE RATA DE DIFERENTES EDADES

Valores medios  $\pm$  error estándar

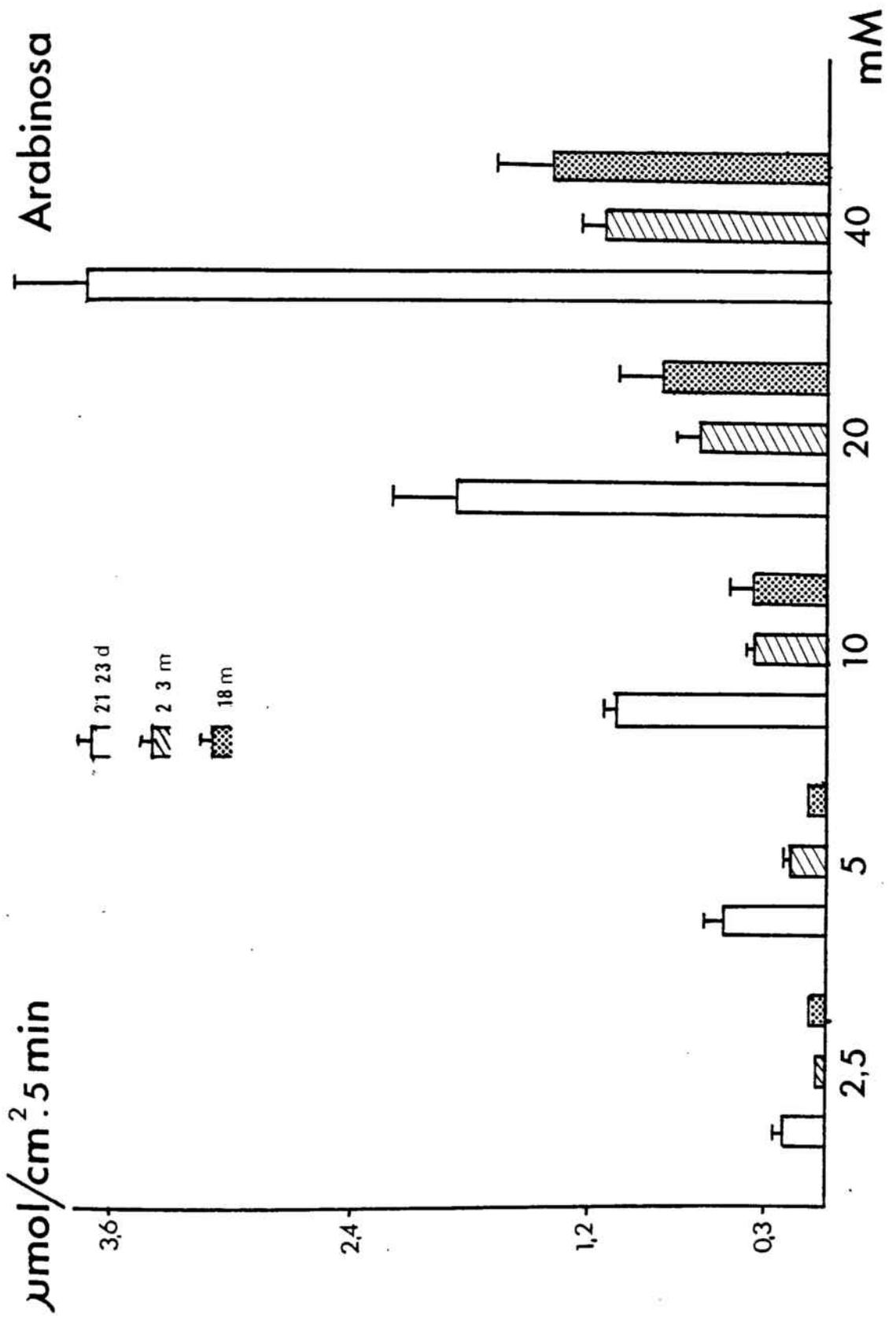


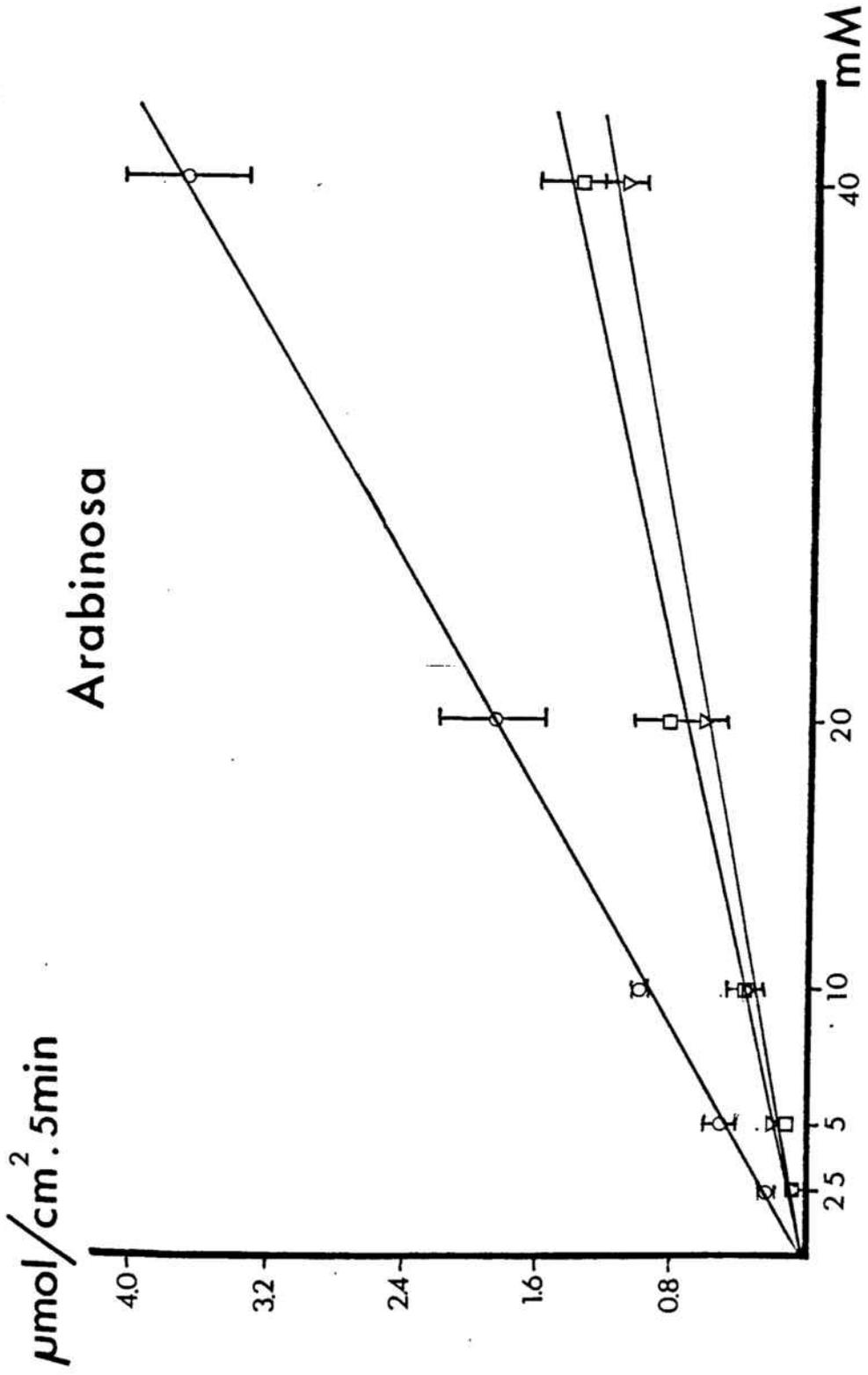
FIGURA 23

CINETICA DE LA ABSORCION DE ARABINOSA POR  
YEYUNO DE RATA "IN VIVO"

○ 21-23 días

▽ 2-3 meses

□ 18 meses



EDAD	RECTA DE REGRESION	r	K <sub>D</sub>
21-23 días	$Y = 0,0921 x + 0,0463$	0,9991	0,0921
2-3 meses	$Y = 0,0276 x + 0,0375$	0,9953	0,0276
18 meses	$Y = 0,0361 x - 0,0121$	0,9911	0,0361

TABLA XIX

DIFUSION DE ARABINOSA POR YEYUNO DE RATA MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO"  
CON CIRCUITO ABIERTO.

EIDADES	SIGNIFICACION
21-23 días ↔ 2-3 meses	p < 0,05
21-23 días ↔ 18 meses	p < 0,05
2-3 meses ↔ 18 meses	p < 0,05

TABLA XX

COMPARACION ENTRE LAS RECTAS DE REGRESION REPRESENTATIVAS DE LA DIFUSION DE L-ARABINOSA, A DIFERENTES EIDADES, POR YEYUNO DE RATA "IN VIVO".

Secomprueba que la absorción decrece con la edad de los animales (TABLAS XXI, XXII y XXIII) y así mismo se ve disminuida a medida que se va eliminando ion sodio del medio en los tres grupos de animales de distintas edades (Fig. 24, 25 y 26).

En la TABLA XXIV se representa el porcentaje de inhibición de la absorción de D-Glucosa conforme se va sustituyendo el sodio por Tris-HCl con respecto a la absorción cuando la concentración de ion sodio es 154 meq/l. Parece que el comportamiento es similar en las tres edades estudiadas.

Es en el primer minuto donde se observa una mayor influencia de la ausencia del sodio y así se puede establecer una correlación lineal entre la concentración de sodio en el medio y los  $\mu\text{moles/cm}^2$  absorbidos (TABLA XXV y Fig. 27).

Con el fin de inhibir completamente el posible transporte activo debido a la presencia de iones sodio procedentes del plasma se ha adicionado floridina al medio y se ha determinado la absorción de D-Glucosa en presencia de sodio (154 meq/l) y en ausencia de sodio y ausencia de sodio con floridina  $5 \times 10^{-4}$  M. En la TABLA XXVI se recogen los valores correspondientes a la absorción de D-Glucosa para las tres edades estudiadas y en la TABLA XXXIV los porcentajes de inhibición con respecto a los controles.

TABLA XXI

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE  $\text{Na}^+$  EN EL MEDIO  
DE PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA 10 mM  
POR YEYUNO DE RATA DE 21-23 DIAS.

\*Valor medio  $\pm$  error estándar

\*\*Número de animales.

TIEMPO (min.)	$\mu$ moles/cm <sup>2</sup>			
Na <sup>+</sup> meq/l:	154	77	38,5	0
1	2,47 ± 0,34* (3)**	2,18 ± 0,63 (4)	1,76 ± 0,56 (4)	1,32 ± 0,31 (3)
5	3,00 ± 0,34 (4)	2,89 ± 0,31 (4)	2,13 ± 0,40 (5)	1,72 ± 0,42 (4)
10	3,99 ± 0,32 (4)	3,91 ± 0,46 (4)	2,67 ± 0,24 (3)	2,25 ± 0,44 (4)
20	4,81 ± 0,49 (5)	4,77 ± 0,44 (4)	3,88 ± 0,19 (4)	3,40 ± 0,62 (3)

FIGURA 24

EFFECTO DE LA DISMINUCION DE SODIO EN EL MEDIO  
DE PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA POR  
YEYUNO DE RATA DE 21-23 DIAS, "IN VIVO"

○ 154 meq/l

● 77 meq/l

▼ 38,5 meq/l

■ 0 meq/l

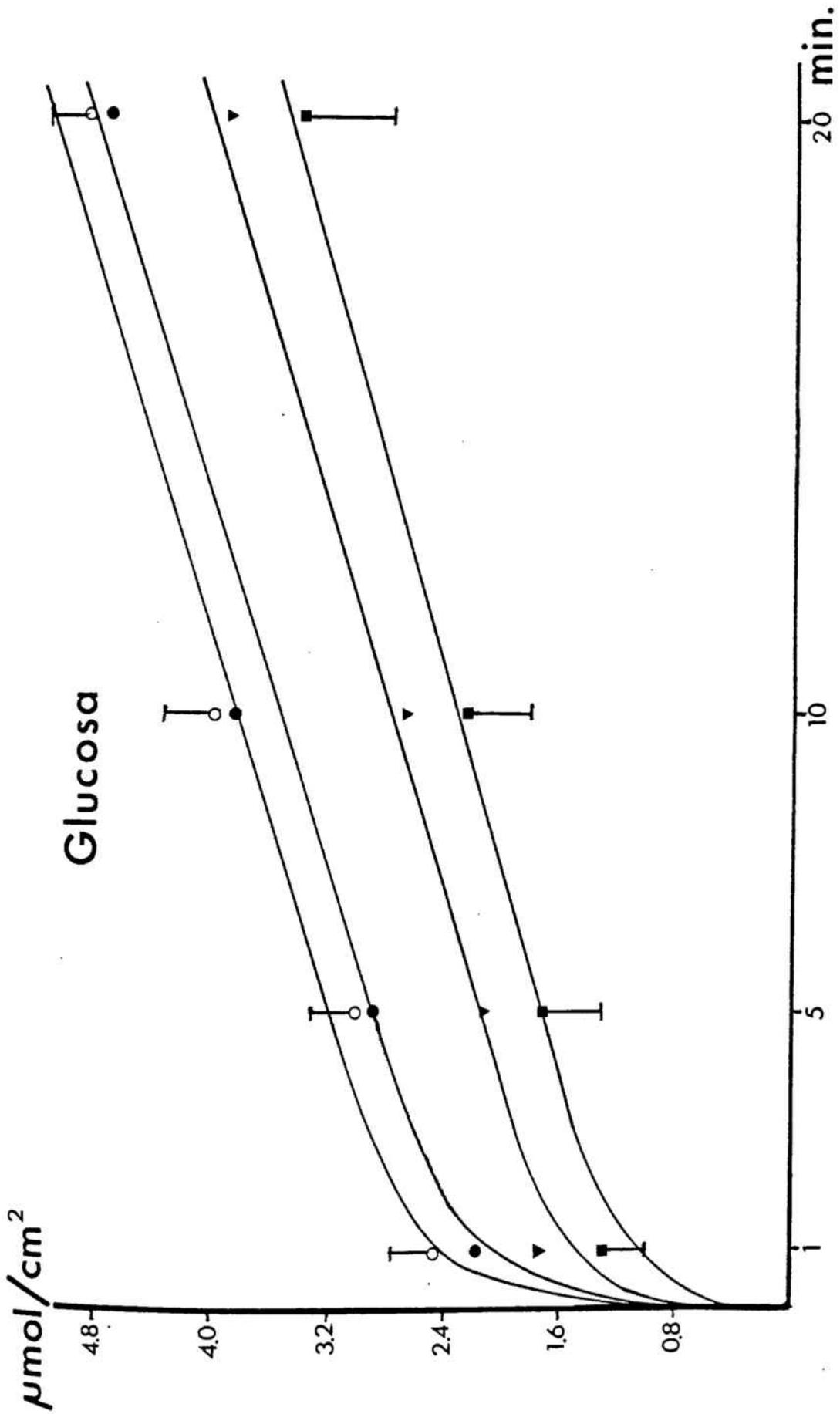


TABLA XXII

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE Na<sup>+</sup> EN EL MEDIO  
DE PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA 10 mM  
POR YEYUNO DE RATA DE 2-3 MESES.

- \* Valor medio  $\pm$  error estándar
- \*\* Número de animales.

TIEMPO (min.)	$\mu\text{moles/cm}^2$				
	Na <sup>+</sup> meq/l	154	77	38,5	0
1		1,08 ± 0,15 (7) ** *	0,95 ± 0,12 (7)	0,65 ± 0,30 (4)	0,53 ± 0,21 (5)
5		1,66 ± 0,22 (7)	1,36 ± 0,25 (6)	1,06 ± 0,16 (5)	0,83 ± 0,22 (5)
10		2,29 ± 0,33 (7)	2,10 ± 0,24 (6)	1,72 ± 0,16 (7)	1,42 ± 0,23 (6)
20		3,00 ± 0,26 (7)	2,84 ± 0,38 (7)	2,61 ± 0,39 (5)	2,40 ± 0,26 (7)

FIGURA 25

EFFECTO DE LA DISMINUCION DE SODIO EN EL MEDIO  
DE PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA  
POR YEYUNO DE RATA DE 2-3 MESES, "IN VIVO".

- 154 meq/l  $\text{Na}^+$
- 77 meq/l  $\text{Na}^+$
- ▼ 38,5 meq/l  $\text{Na}^+$
- 0 meq/l  $\text{Na}^+$

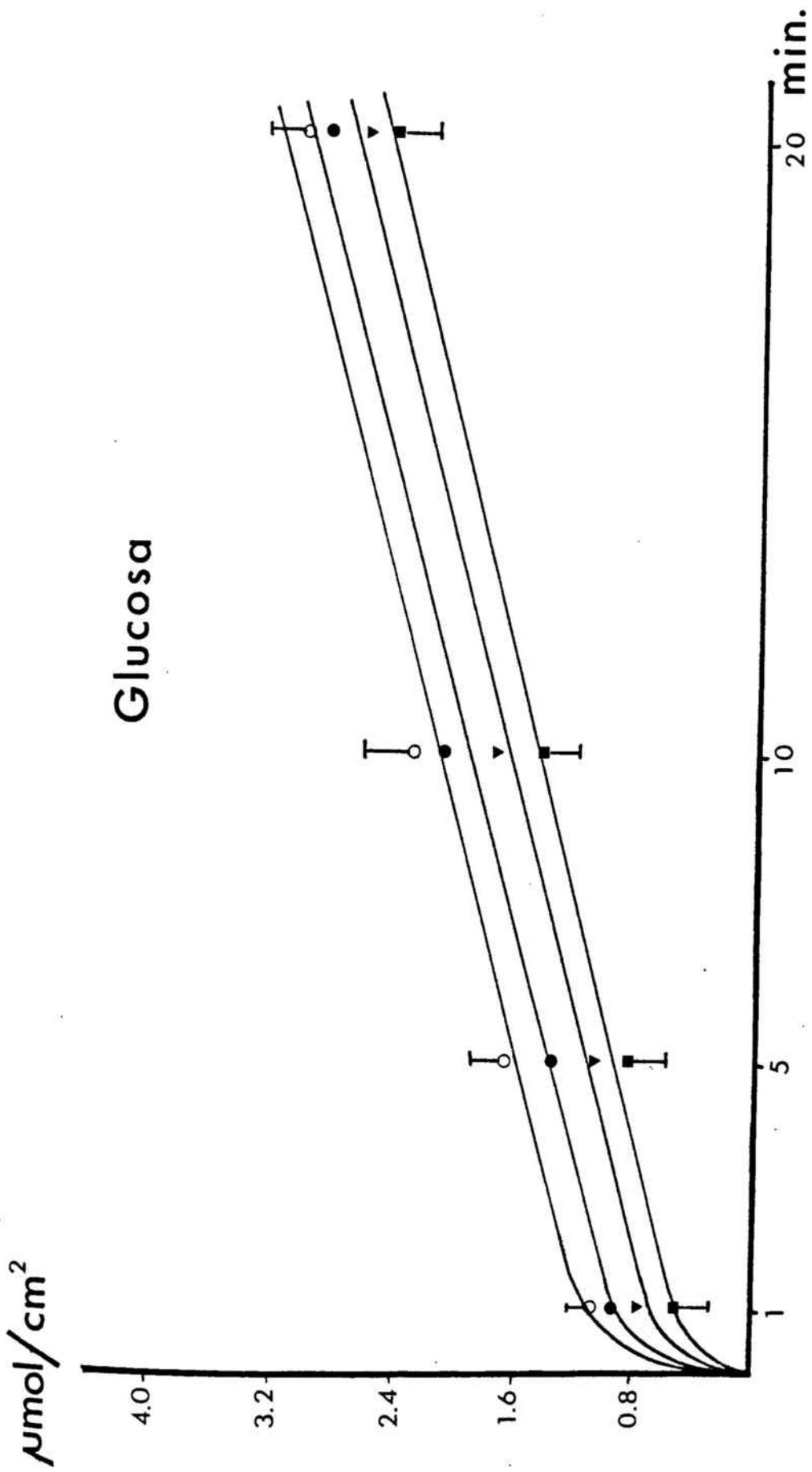


TABLA XXIII

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE Na<sup>+</sup> EN EL MEDIO  
DE PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA 10 mM  
YEYUNO DE RATA DE 18 MESES.

\*Valor medio  $\pm$  error estándar

\*\*Número de animales.

TIEMPO (min.)	$\mu$ moles/cm <sup>2</sup>				
	Na <sup>+</sup> meq/l	154	77	38,5	0
1	1,48 ± 0,26* (7)**	1,15 ± 0,15 (6)	0,81 ± 0,06 (6)	0,62 ± 0,12 (4)	
5	1,99 ± 0,20 (7)	1,53 ± 0,15 (8)	1,34 ± 0,15 (8)	1,13 ± 0,07 (8)	
10	2,13 ± 0,17 (8)	2,01 ± 0,13 (7)	1,75 ± 0,11 (9)	1,59 ± 0,16 (6)	
20	2,88 ± 0,16 (8)	2,63 ± 0,20 (7)	2,56 ± 0,17 (9)	2,21 ± 0,10 (8)	

FIGURA 26

EFEECTO DE LA DISMINUCION DE SODIO EN EL MEDIO  
DE PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA POR  
YEYUNO DE RATA DE 18 MESES, "IN VIVO"

- 154 meq/l
- 77 meq/l
- ▼ 38,5 meq/l
- 0 meq/l

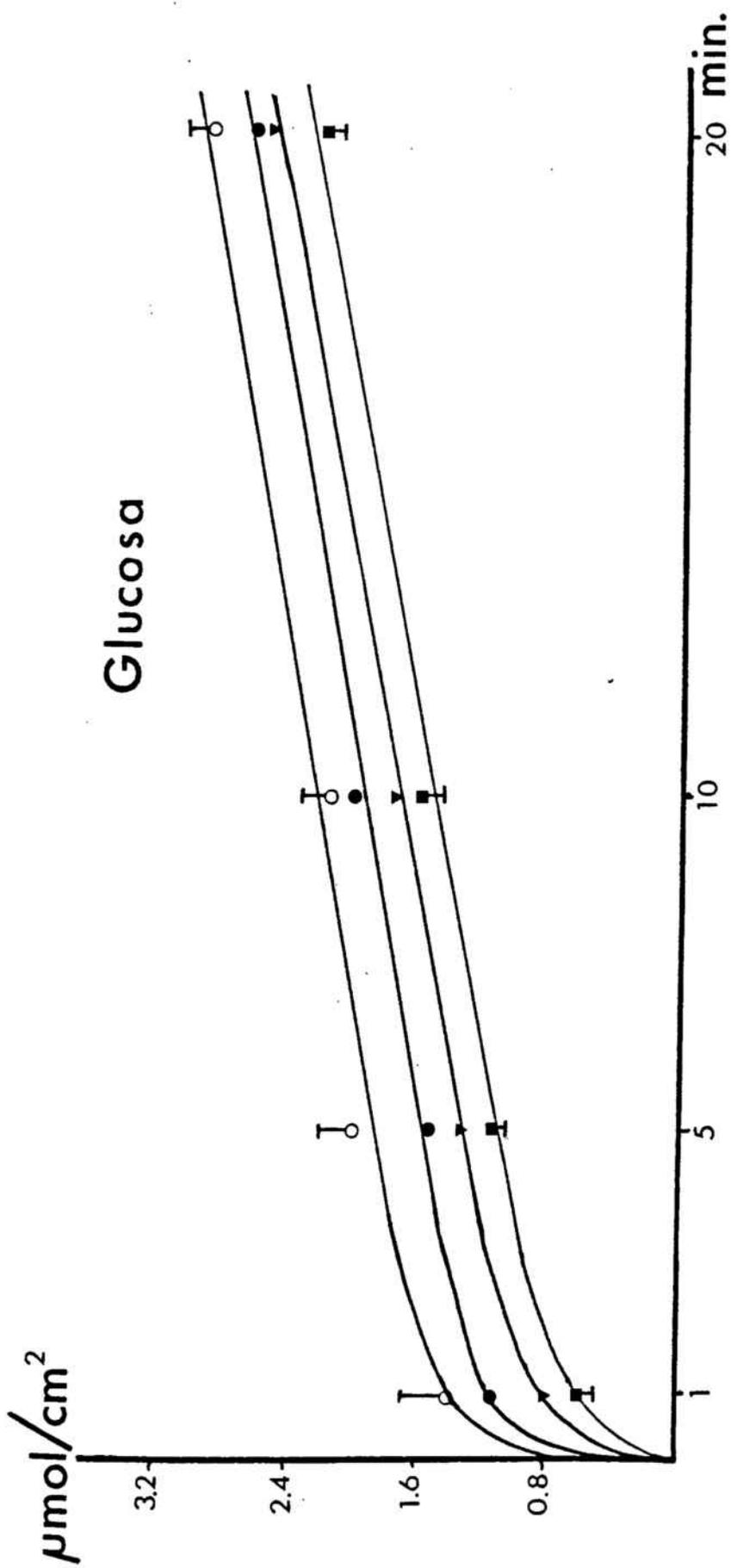


TABLA XXIV

PORCENTAJE DE INHIBICION DE LA ABSORCION DE  
GLUCOSA POR DESCENSO DE LA CONCENTRACION LU\_  
MINAL DE Na<sup>+</sup> EN YEYUNO DE RATA.

TIEMPO (min.)	% INHIBICION			EDAD
	Na <sup>+</sup> meq/l:	77	38,5	
1	11,74	28,74	46,56	} 21-23 días
5	3,67	29,00	42,67	
10	2,01	33,08	43,61	
20	0,83	19,33	28,48	
1	12,04	39,81	50,93	} 2-3 meses
5	18,07	36,16	50,00	
10	8,30	24,89	37,99	
20	5,33	13,00	20,00	
1	22,30	45,27	58,11	} 18 meses
5	23,12	32,66	43,22	
10	5,63	17,84	25,35	
20	8,68	11,11	23,26	

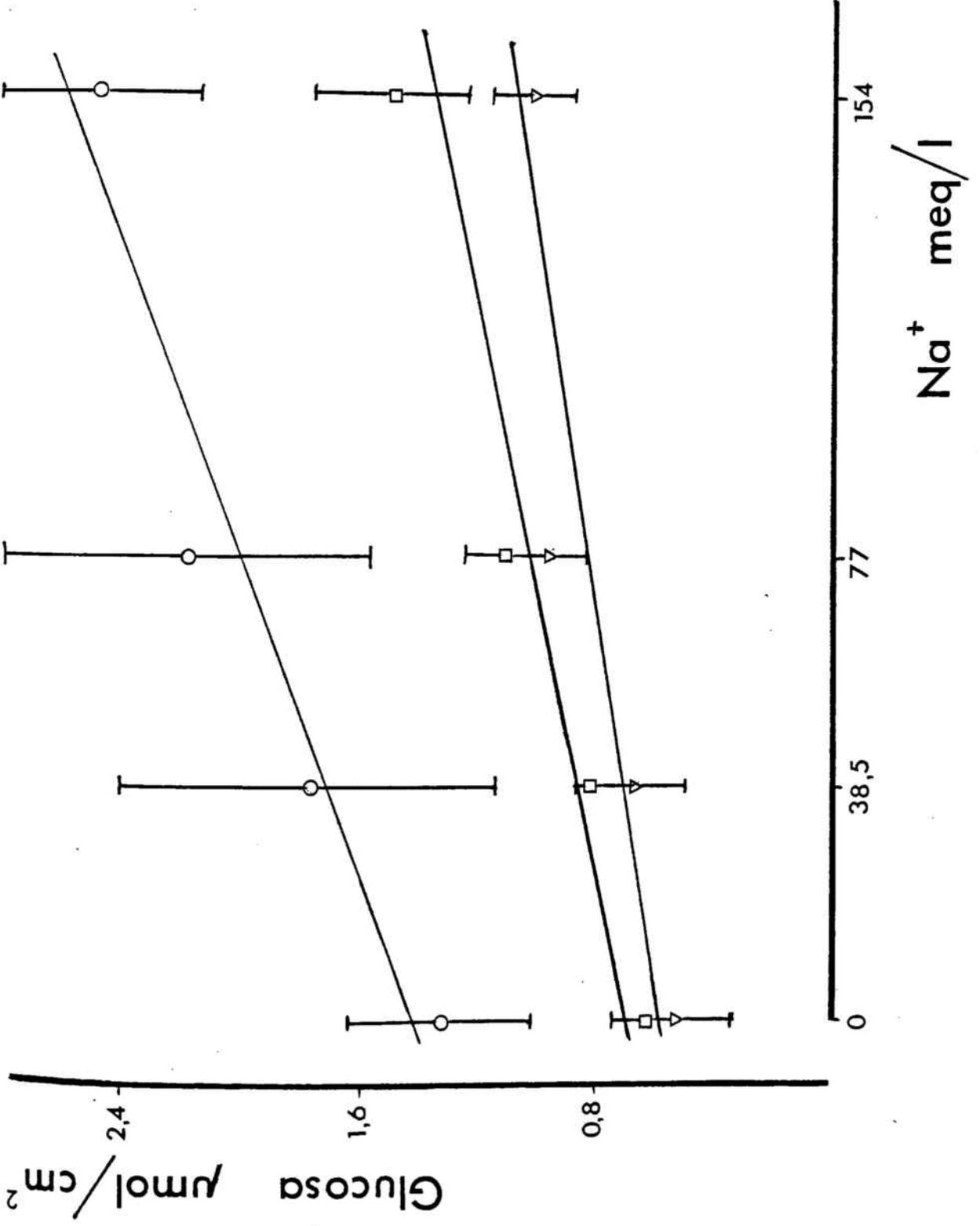
FIGURA 27

CORRELACION ENTRE LA ABSORCION DE GLUCOSA POR  
YEYUNO DE RATA "IN VIVO" Y LA CONCENTRACION  
DE SODIO EN EL MEDIO DE PERFUSION.

○ 21-23 días

▽ 2-3 meses

□ 18 meses



EDAD	RECTA DE REGRESION	r
21-23 días	$Y = 0,0073 x + 1,4380$	0,9619
2-3 meses	$Y = 0,0037 x + 0,5520$	0,9557
18 meses	$Y = 0,0057 x + 0,6300$	0,9895

TABLA XXV

CORRELACION ENTRE LA CONCENTRACION DE  $Na^+$  EN EL MEDIO Y LA ABSORCION DE D-GLUCOSA 10 mM POR YEYUNO DE RATA MEDIANTE PERFUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO CERRADO EN PERIODOS DE 1 MINUTO.

TABLA XXVI

EFFECTO DE LA AUSENCIA DE SODIO Y DE LA AUSENCIA  
DE SODIO Y PRESENCIA DE FLORICINA SOBRE LA ABSOR\_  
CION DE D-GLUCOSA POR YEYUNO DE RATA DE DISTINTAS  
EDADES.

\* media  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

EDAD	μmoles/cm <sup>2</sup> /min.		
	Na	Tris-HCl	Tris-HCl + Floricina
21-23 días	0,54 ± 0,05 (4)	0,16 ± 0,04 (6)	0,15 ± 0,04 (6)
2-3 meses	0,30 ± 0,05 (7)	0,16 ± 0,04 (8)	0,12 ± 0,02 (6)
18 meses	0,11 ± 0,02 (6)	0,05 ± 0,01 (5)	0,05 ± 0,01 (4)

#### 4.5.2. EFECTO DEL ION SODIO SOBRE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA POR ILEON DE RATA DE DIFERENTES EDADES.

En las TABLAS XXVII, XXVIII y XXIX aparecen las cantidades de D-Glucosa absorbidas en función de las concentraciones de ion sodio en el medio y en la TABLA XXX el porcentaje de inhibición de la absorción de D-Glucosa al ir eliminando el ion sodio con respecto a los controles que contienen 154 meq/l para las distintas edades estudiadas.

La correlación entre las concentraciones de sodio en el medio y la absorción de D-Glucosa se observan en la Fig.31 y en la TABLA XXXI.

La TABLA XXXIII representa la absorción de D-Glucosa en circuito abierto durante un minuto al eliminar el ion sodio y añadiendo floridina a la concentración de  $5 \times 10^{-4}$  M para los tres grupos de nuestro estudio.

La TABLA XXXIV recoge el tanto por ciento de inhibición sobre la absorción de D-Glucosa 10 mM en circuito abierto y en períodos de 1 minuto al sustituir el sodio por Tris-HCl y al adicionar floridina al medio, para las tres edades estudiadas, tanto en yeyuno como en ileon de rata.

TABLA XXVII

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE Na<sup>+</sup> EN EL MEDIO  
DE PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA 10 mM  
POR ILEON DE RATA DE 21-23 DIAS.

\* Valor medio  $\pm$  error estándar

\*\* Número de animales.

TIEMPO (min.)	$\mu\text{moles/cm}^2$				
	Na <sup>+</sup> meq/l:	154	77	38,5	0
1	2,60 ± 0,51* (5),**	1,55 ± 0,39 (4)	1,15 ± 0,11 (3)	0,42 ± 0,31 (4)	
5	3,44 ± 0,80 (4)	2,39 ± 0,17 (5)	2,03 ± 0,39 (6)	0,89 ± 0,16 (5)	
10	4,01 ± 0,13 (4)	3,00 ± 0,31 (6)	2,70 ± 0,59 (4)	1,62 ± 0,40 (6)	
20	4,58 ± 0,35 (6)	4,25 ± 0,35 (6)	3,61 ± 0,55 (6)	2,82 ± 0,44 (5)	

FIGURA 28

EFEECTO DE LA DISMINUCION DE SODIO EN EL MEDIO DE  
PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA POR ILEON  
DE RATA DE 21-23 DIAS, "IN VIVO"

- 154 meq/l Na<sup>+</sup>
- 77 meq/l Na<sup>+</sup>
- ▼ 38,5 meq/l Na<sup>+</sup>
- 0 meq/l Na<sup>+</sup>

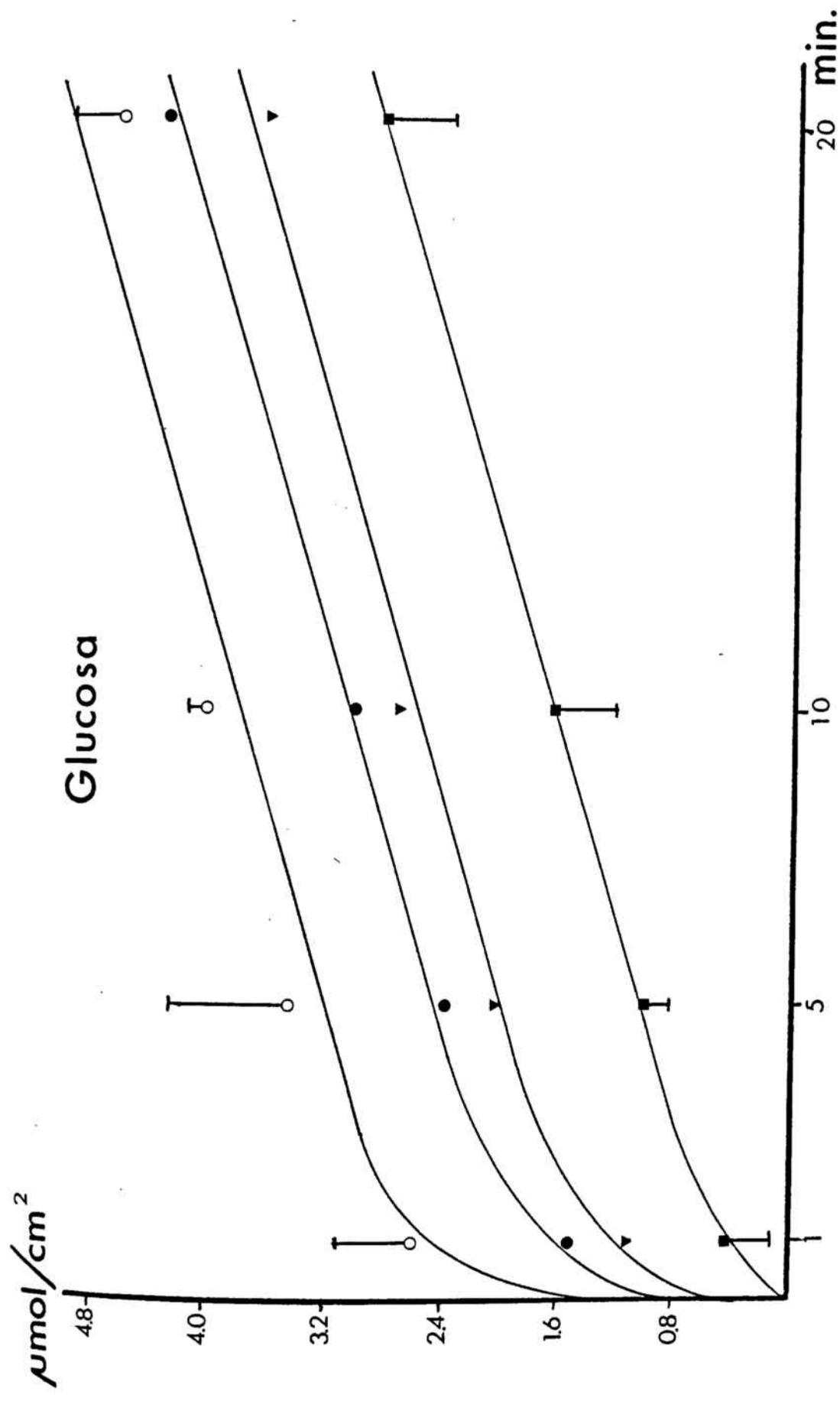


TABLA XXVIII

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE Na<sup>+</sup> EN EL MEDIO  
DE PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA 10 mM  
POR ILEON DE RATA DE 2-3 MESES.

\* Valor medio  $\pm$  error estándar

\*\* Número de animales.

TIEMPO (min.)	$\mu\text{moles/cm}^2$				
	Na <sup>+</sup> meq/l:	154	77	38,5	0
1		1,25 ± 0,23 * (6) **	0,93 ± 0,34 (4)	0,54 ± 0,17 (5)	0,46 ± 0,05 (3)
5		1,36 ± 0,17 (4)	1,30 ± 0,24 (6)	0,91 ± 0,15 (6)	0,73 ± 0,23 (6)
10		1,66 ± 0,16 (6)	1,50 ± 0,16 (6)	1,29 ± 0,12 (7)	0,97 ± 0,27 (6)
20		2,39 ± 0,27 (3)	2,26 ± 0,21 (6)	1,98 ± 0,09 (6)	1,72 ± 0,32 (7)

FIGURA 29

EFFECTO DE LA DISMINUCION DE SODIO EN EL MEDIO DE PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA POR ILEON DE RATA DE 2-3 MESES, "IN VIVO".

- 154 meq/l Na<sup>+</sup>
- 77 meq/l Na<sup>+</sup>
- ▼ 38,5 meq/l Na<sup>+</sup>
- 0 meq/l Na<sup>+</sup>

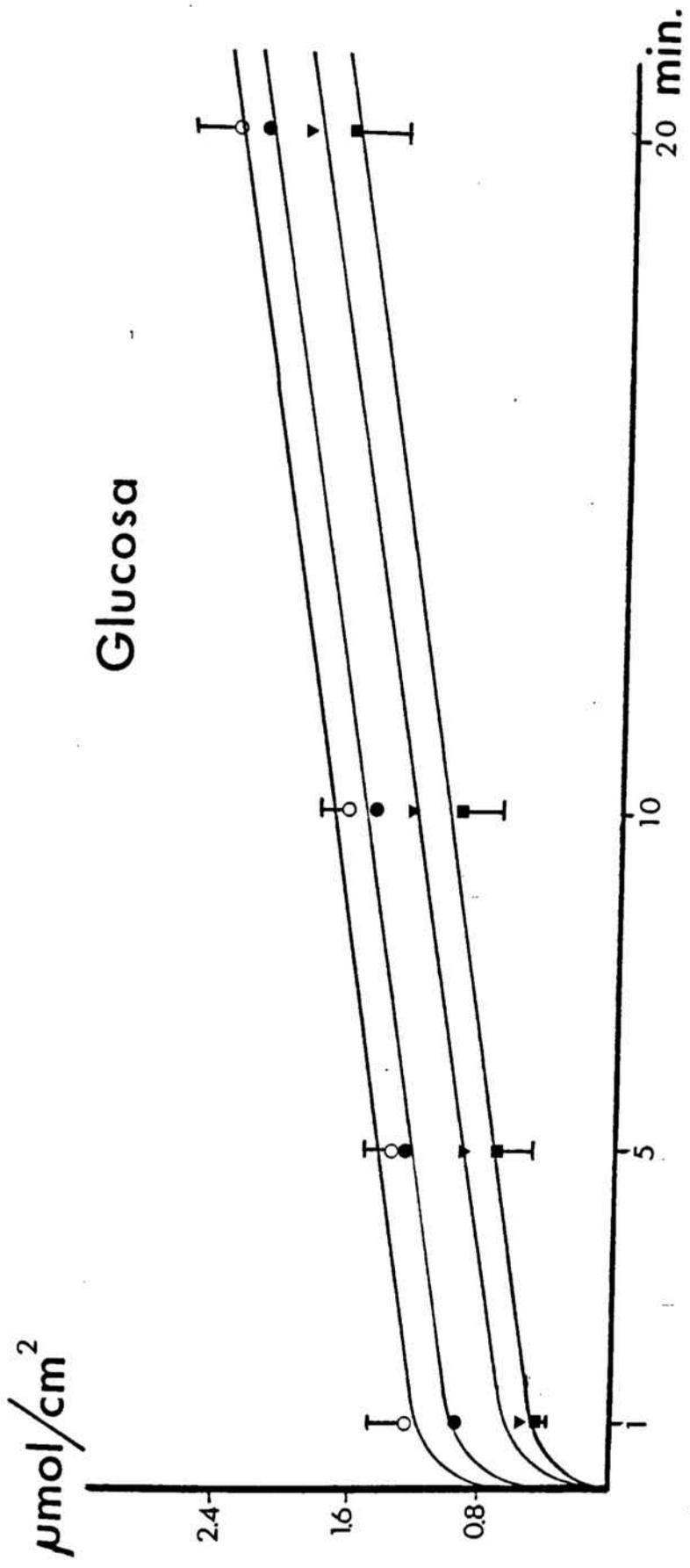


TABLA XXIX

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE  $\text{Na}^+$  EN EL MEDIO  
DE PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA 10 mM  
POR ILEON DE RATA DE 18 MESES

\* Valor medio  $\pm$  error estándar

\*\* Número de animales.

		$\mu\text{moles/cm}^2$			
TIEMPO (min.)	Na <sup>+</sup> meq/l:	154	77	38,5	0
1		1,42 ± 0,11* (4)**	0,93 ± 0,12 (6)	0,87 ± 0,12 (5)	0,75 ± 0,19 (6)
5		1,55 ± 0,17 (5)	1,21 ± 0,09 (6)	1,08 ± 0,14 (6)	0,92 ± 0,17 (9)
10		1,85 ± 0,15 (6)	1,40 ± 0,15 (7)	1,36 ± 0,11 (6)	1,15 ± 0,12 (6)
20		2,09 ± 0,16 (8)	1,97 ± 0,18 (8)	1,90 ± 0,23 (6)	1,82 ± 0,19 (8)

FIGURA 30

EFEECTO DE LA DISMINUCION DE SODIO EN EL MEDIO DE  
PERFUSION SOBRE LA ABSORCION DE GLUCOSA POR ILEON  
DE RATA DE 18 MESES, "IN VIVO".

- 154 meq/l  $\text{Na}^+$
- 77 meq/l  $\text{Na}^+$
- ▼ 38,5 meq/l  $\text{Na}^+$
- 0 meq/l  $\text{Na}^+$

# Glucosa

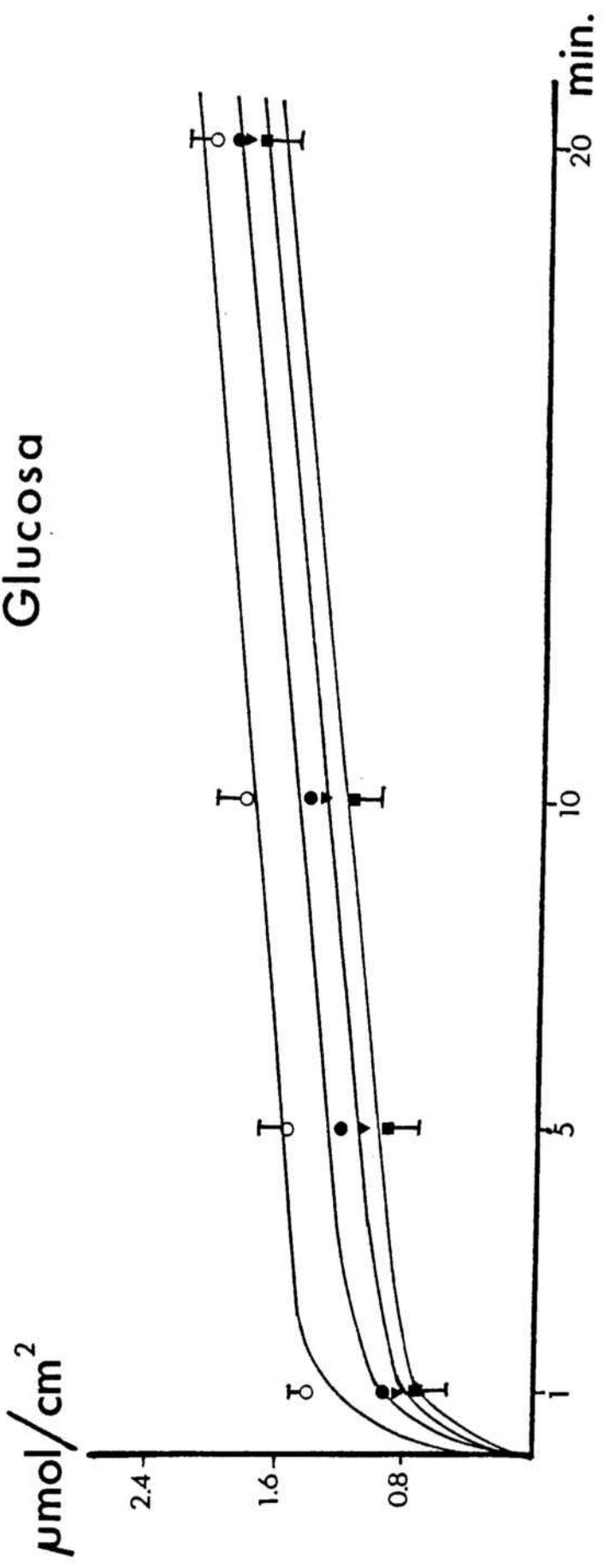


TABLA XXX

PORCENTAJE DE INHIBICION DE LA ABSORCION DE  
GLUCOSA POR DESCENSO DE LA CONCENTRACION LU\_  
MINAL DE Na<sup>+</sup> EN ILEON DE RATA.

TIEMPO (min.)	% INHIBICION			EDAD
	Na <sup>+</sup> meq/l:	77	38,5	
1	40,38	55,77	88,85	} 21-23 días
5	30,52	40,99	74,13	
10	25,19	32,67	59,60	
20	7,21	21,18	38,43	
1	25,60	56,80	63,20	} 2-3 meses
5	4,41	33,09	46,32	
10	9,64	22,29	41,57	
20	5,44	17,15	28,03	
1	34,21	38,73	47,12	} 18 meses
5	21,94	30,32	40,65	
10	24,32	26,49	37,84	
20	5,74	9,09	12,92	

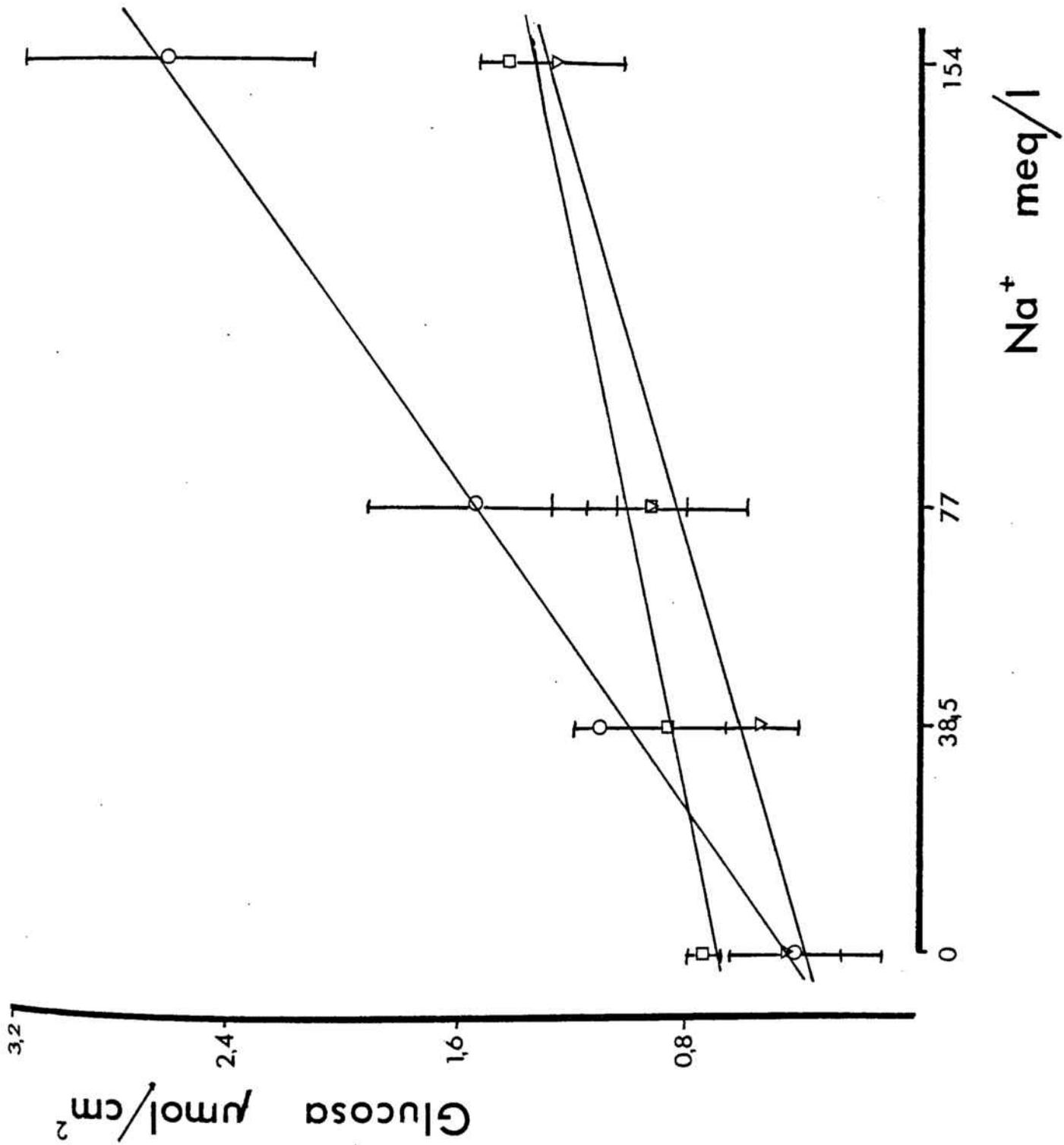
FIGURA 31

CORRELACION ENTRE LA ABSORCION DE GLUCOSA POR  
ILEON DE RATA "IN VIVO" Y LA CONCENTRACION DE  
SODIO EN EL MEDIO DE PERFUSION

○ 21-23 días

∇ 2-3 meses

□ 18 meses



EDAD	RECTA DE REGRESION	r
21-23 días	$Y = 0,0138 x + 0,5020$	0,9957
2-3 meses	$Y = 0,0054 x + 0,4280$	0,9778
18 meses	$Y = 0,0043 x + 0,7000$	0,9687

TABLA XXXI

CORRELACION ENTRE LA CONCENTRACION DE  $Na^+$  EN EL MEDIO Y LA ABSORCION DE GLUCOSA 10 mM POR ILEON DE RATA MEDIANTE PER-FUSION "IN VIVO" CON CIRCUITO CERRADO EN PERIODOS DE 1 MINUTO.

EDADES	YEYUNO	ILEON
21-23 días ↔ 2-3 meses	n.s.	p < 0,05
21-23 días ↔ 18 meses	n.s.	p < 0,05
2-3 meses ↔ 18 meses	n.s.	n.s.

TABLA XXXII

COMPARACION ENTRE LAS RECTAS DE REGRESION QUE RELACIONAN LA CONCENTRACION DE ION SODIO EN EL MEDIO CON LA ABSORCION DE D-GLUCOSA A DIFERENTES EDADES, DURANTE EL PRIMER MINUTO DE PERFUSION "IN VIVO".

TABLA XXXIII

EFFECTO DE LA AUSENCIA DE SODIO Y DE LA AUSENCIA  
DE SODIO Y PRESENCIA DE FLORICINA SOBRE LA ABSOR\_  
CION DE D-GLUCOSA POR ILEON DE RATA DE DISTINTAS  
EADADES.

\* media  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

EDAD	$\mu\text{moles/cm}^2/\text{min.}$			
	Na	Tris-HCl	Tris-HCl	Floricina
21-23 días	$0,53 \pm 0,07^*$ (6)**	$0,08 \pm 0,02$ (3)	$0,06 \pm 0,02$ (3)	
2-3 meses	$0,27 \pm 0,03$ (6)	$0,09 \pm 0,03$ (4)	$0,06 \pm 0,01$ (6)	
18 meses	$0,10 \pm 0,02$ (5)	$0,05 \pm 0,01$ (7)	$0,03 \pm 0,01$ (3)	

EDAD	TRIS-HCl		TRIS-HCl + FLORICINA	
	YEYUNO	ILEON	YEYUNO	ILEON
21-23 días	70	85	72	89
2-3 meses	47	67	60	78
18 meses	55	50	55	70

TABLA XXXIV

PORCENTAJE DE INHIBICION DE LA ABSORCION DE D-GLUCOSA EN AUSENCIA DE SODIO Y EN AUSENCIA DE SODIO Y PRESENCIA DE FLORICINA EN YEYUNO E ILEON DE RATA DE DISTINTAS EDADES

#### 4.6. DETERMINACION DE LAS CANTIDADES DE SODIO EN EL LIQUIDO DE PERFUSION A DISTINTAS EDADES.

Se ha determinado la concentración de sodio en el líquido de perfusión antes y después de perfundir D-Glucosa 10 mM en un medio que contenía distintas cantidades iniciales del ion. Los resultados expresados en función del área del segmento intestinal, durante períodos de 20 minutos aparecen en las TABLAS XXXV, XXXVI y XXXVII, no observándose diferencias significativas cuando existe una cierta cantidad de sodio. En ausencia de sodio se aprecia una salida de sodio hacia el lumen intestinal en los animales más jóvenes y en los más viejos (TABLA XXXVIII).

Si perfundimos D-Glucosa 10 mM durante 1 minuto en presencia y ausencia de sodio y además adicionamos floricina al medio, obtenemos unas concentraciones de sodio que aparecen recogidas en las TABLAS XII, XL y XLI para cada una de las distintas edades estudiadas respectivamente y en la TABLA XLII se representan los valores de salida de sodio hacia el lumen intestinal en cada caso.

TABLA X XXV

CONCENTRACIONES INICIALES Y FINALES DE SODIO  
TRAS PERFUSION DE D-GLUCOSA 10 mM DURANTE 20  
MINUTOS EN RATAS DE 21-23 DIAS CON DISTINTAS  
CANTIDADES INICIALES DE SODIO EN EL MEDIO.

\*media  $\pm$  error estándar

\*\*número de animales

Na <sup>+</sup> meq/l	Na <sup>+</sup> ( μmoles/20 min./cm <sup>2</sup> )					
	YEYUNO			ILEON		
	INICIAL	FINAL		INICIAL	FINAL	
154	358,97 ± 33,41 (4) _____ n.s.	335,73 ± 51,57* (4)* * _____		288,12 ± 35,33 (6) _____ n.s.	262,09 ± 27,39 (6) _____	
77	151,39 ± 25,08 (5) _____ n.s.	151,57 ± 22,22 (5) _____		150,75 ± 21,01 (5) _____ n.s.	137,00 ± 14,55 (5) _____	
38,5	65,68 ± 8,24 (4) _____ n.s.	66,99 ± 7,93 (4) _____		87,34 ± 11,94 (5) _____ n.s.	87,01 ± 13,13 (5) _____	
0	3,80 ± 0,62 (3) _____ P 0,05 _____	29,29 ± 6,22 (3) _____		4,74 ± 0,72 (4) _____ P 0,05 _____	8,28 ± 1,08 (4) _____	

TABLA XXXVI

CONCENTRACIONES INICIALES Y FINALES DE SODIO  
TRAS PERFUSION DE D-GLUCOSA 10 mM DURANTE 20  
MINUTOS EN RATAS DE 2-3 MESES CON DISTINTAS  
CANTIDADES INICIALES DE SODIO EN EL MEDIO

\* media  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

Na <sup>+</sup> meq/l	Na <sup>+</sup> (μmoles/20 min./cm <sup>2</sup> )			
	YEYUNO		ILEON	
	INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL
154	142,61 ± 10,70 (6) n.s.	137,55 ± 10,88* (6)*	137,76 ± 14,15 (7) n.s.	110,48 ± 13,94 (7)
77	78,78 ± 6,23 (7) n.s.	81,94 ± 8,14 (7)	66,99 ± 8,74 (7) n.s.	63,54 ± 9,70 (7)
38,5	36,57 ± 2,30 (7) n.s.	39,27 ± 2,84 (7)	32,02 ± 3,24 (7) n.s.	34,01 ± 4,75 (7)
0	7,86 ± 1,06 (6) n.s.	9,88 ± 1,15 (6)	7,27 ± 1,23 (6) n.s.	4,10 ± 0,30 (6)

TABLA XXXVII

CONCENTRACIONES INICIALES Y FINALES DE SODIO  
TRAS PERFUSION DE D-GLUCOSA 10 mM DURANTE 20-  
MINUTOS EN RATAS DE 18 MESES CON DISTINTAS  
CANTIDADES INICIALES DE SODIO EN EL MEDIO

\* media  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

Na <sup>+</sup> meq/l	Na <sup>+</sup> ( μmoles/20 min./cm <sup>2</sup> )			
	YEYUNO		ILEON	
	INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL
154	116,19 ± 7,50 (7) n.s.	98,91 ± 11,38* (7)**	83,18 ± 6,04 (7) n.s.	71,41 ± 8,41 (7)
77	56,45 ± 4,96 (8) n.s.	51,38 ± 5,38 (8)	42,22 ± 3,68 (8) n.s.	36,36 ± 3,84 (8)
38,5	28,65 ± 1,24 (8) n.s.	25,66 ± 2,69 (8)	20,86 ± 2,01 (5) n.s.	17,84 ± 1,96 (5)
0	2,10 ± 0,59 (5) p < 0,001	18,48 ± 1,72 (5)	1,15 ± 0,04 (7) p < 0,005	7,08 ± 1,35 (7)

EDAD	Na <sup>+</sup> (μmoles/20 min./cm <sup>2</sup> )	
	YEYUNO	ILEON
21-23 días	25,49 ± 6,06* (3)**	3,04 ± 1,01 (4)
2-3 meses	-	-
18 meses	16,38 ± 1,26 (5)	5,94 ± 1,34 (7)

TABLA XXXVIII

SALIDA DE SODIO HACIA EL LUMEN INTESTINAL DESPUES DE PERFUNDIR D-GLUCOSA 10 mM EN AUSENCIA DE SODIO EN EL MEDIO DURANTE 20 MINUTOS EN RATAS DE DISTINTAS EDADES.

\*media ± error estándar

\*\*número de animales

TABLA XIL

CONCENTRACIONES INICIALES Y FINALES DE SODIO  
EN EL MEDIO TRAS PERFUSION DE D-GLUCOSA 10 mM  
DURANTE 1 MINUTO EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE  
SODIO EN RATAS DE 21-23 DIAS

\* media  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

		Na <sup>+</sup> ( μmoles/min./cm <sup>2</sup> )			
		YEYUNO		ILEON	
		INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL
Na		49,91 ± 3,06 (6)	51,64 ± 2,44* (6)**	58,52 ± 0,40 (6)	61,56 ± 1,29 (6)
		----- n.s. -----		----- n.s. -----	
Tris-HCl		0,15 ± 0,01 (8)	0,87 ± 0,08 (8)	0,17 ± 0,01 (7)	0,71 ± 0,07 (7)
		----- p < 0,001 -----		----- p < 0,001 -----	
Tris-HCl Floricina		0,10 ± 0,02 (8)	0,84 ± 0,09 (8)	0,11 ± 0,03 (8)	0,88 ± 0,07 (8)
		----- p < 0,001 -----		----- p < 0,001 -----	

TABLA XL.

CONCENTRACIONES INICIALES Y FINALES DE SODIO  
EN EL MEDIO TRAS PERFUSION DE D-GLUCOSA 10 mM  
DURANTE 1 MINUTO EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE  
SODIO EN RATAS DE 2-3 MESES

\* media  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

		Na <sup>+</sup> ( μmoles/min./cm <sup>2</sup> )			
		YEYUNO		ILEON	
		INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL
Na		33,71 ± 3,64 (6)	36,94 ± 4,07 (6)	21,12 ± 1,76 (7)	22,94 ± 1,85 (7)
		----- n.s. -----		----- n.s. -----	
Tris-HCl		0,22 ± 0,03 (8)	-0,88 ± 0,12 (8)	0,16 ± 0,00 (7)	0,50 ± 0,07 (7)
		----- p < 0,001 -----		----- p < 0,001 -----	
Tris-HCl Floricina		0,11 ± 0,01 (8)	0,88 ± 0,11 (8)	0,08 ± 0,00 (8)	0,39 ± 0,07 (8)
		----- p < 0,001 -----		----- p < 0,001 -----	

TABLA XLI

CONCENTRACIONES INICIALES Y FINALES DE SODIO  
EN EL MEDIO TRAS PERFUSION DE D-GLUCOSA 10 mM  
DURANTE 1 MINUTO EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE  
SODIO EN RATAS DE 18 MESES:

\* media  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

		Na <sup>+</sup> (µmoles/min./cm <sup>2</sup> )			
		YEYUNO		ILEON	
		INICIAL	FINAL	INICIAL	FINAL
Na		21,08 ± 0,92 (6)	22,96 ± 0,94* (6)**	22,34 ± 1,60 (6)	23,29 ± 1,11 (6)
		----- n.s. -----		----- n.s. -----	
Tris-HCl		0,11 ± 0,01 (7)	0,67 ± 0,08 (7)	0,10 ± 0,02 (7)	0,49 ± 0,06 (7)
		----- p < 0,001 -----		----- p < 0,001 -----	
Tris-HCl Floricina		0,03 ± 0,01 (7)	0,55 ± 0,05 (7)	0,05 ± 0,01 (8)	0,40 ± 0,03 (8)
		----- p < 0,001 -----		----- p < 0,001 -----	

EDAD	Na <sup>+</sup> ( μmoles/min./cm <sup>2</sup> )			
	TRIS-HCl		TRIS-HCl + FLORICINA	
	YEUONO	ILEON	YEUONO	ILEON
21-23 días	0,72 ± 0,07 (8)	0,53 ± 0,07* (7)**	0,74 ± 0,08 (8)	0,77 ± 0,07 (8)
2-3 meses	0,69 ± 0,10 (8)	0,34 ± 0,07 (7)	0,77 ± 0,10 (8)	0,33 ± 0,06 (8)
18 meses	0,56 ± 0,07 (7)	0,39 ± 0,06 (7)	0,52 ± 0,04 (7)	0,35 ± 0,02 (8)

TABLA XLII

SALIDA DE SODIO HACIA EL LUMEN INTESTINAL DESPUES DE PERFUNDIR DURANTE 1 MINUTO D-GLUCOSA 10 mM EN AUSENCIA DE SODIO Y EFECTO DE LA FLORICINA EN RATAS DE DISTINTAS EDADES. \* media ± error estandar \*\* número animales

#### 4.7. EFECTO DE 2,4,6-TRIAMINOPIRIMIDINA (TAP) SOBRE LA ABSORCION INTESTINAL DE D-GLUCOSA

En la TABLA XLIII y en la Figura 32 se recogen los valores de absorción de D-Glucosa 20 mM en presencia de floricina  $5 \times 10^{-4}$  M por yeyuno e ileon de rata de 2-3 meses de edad mediante perfusión "in vivo" con circuito cerrado por espacio de 5 minutos, lo que representa la difusión de este azúcar a través del intestino delgado. También se ha adicionado al medio TAP a una concentración 20 mM para comprobar si dicha sustancia provoca "in vivo" un efecto inhibitor sobre la absorción de D-Glucosa como consecuencia del estrechamiento de las uniones estrechas observado por MORENO en 1974 y 1975.

Como se desprende de nuestros resultados TAP a una concentración de 20 mM provoca una inhibición del 32% sobre la difusión de D-Glucosa 20 mM a través del yeyuno y del ileon de la rata.

#### 4.8. SALIDA DE GLUCOSA HACIA EL LUMEN INTESTINAL

La salida de glucosa desde el plasma hacia el lumen del yeyuno y del ileon de rata de 2-3 meses, al ser perfundidos con solución salina fisiológica durante 30 minutos se ha determinado, mostrandose los resultados obtenidos en la

GLUCOSA $\mu\text{mol}/\text{cm}^2/5 \text{ min.}$			
	-	TAP	INHIBICION %
YEYUNO	$1,73 \pm 0,34$ (4)	$1,17 \pm 0,10$ (5)	32
ILEON	$1,52 \pm 0,09$ (5)	$1,04 \pm 0,19$ (6)	32

TABLA XLIII

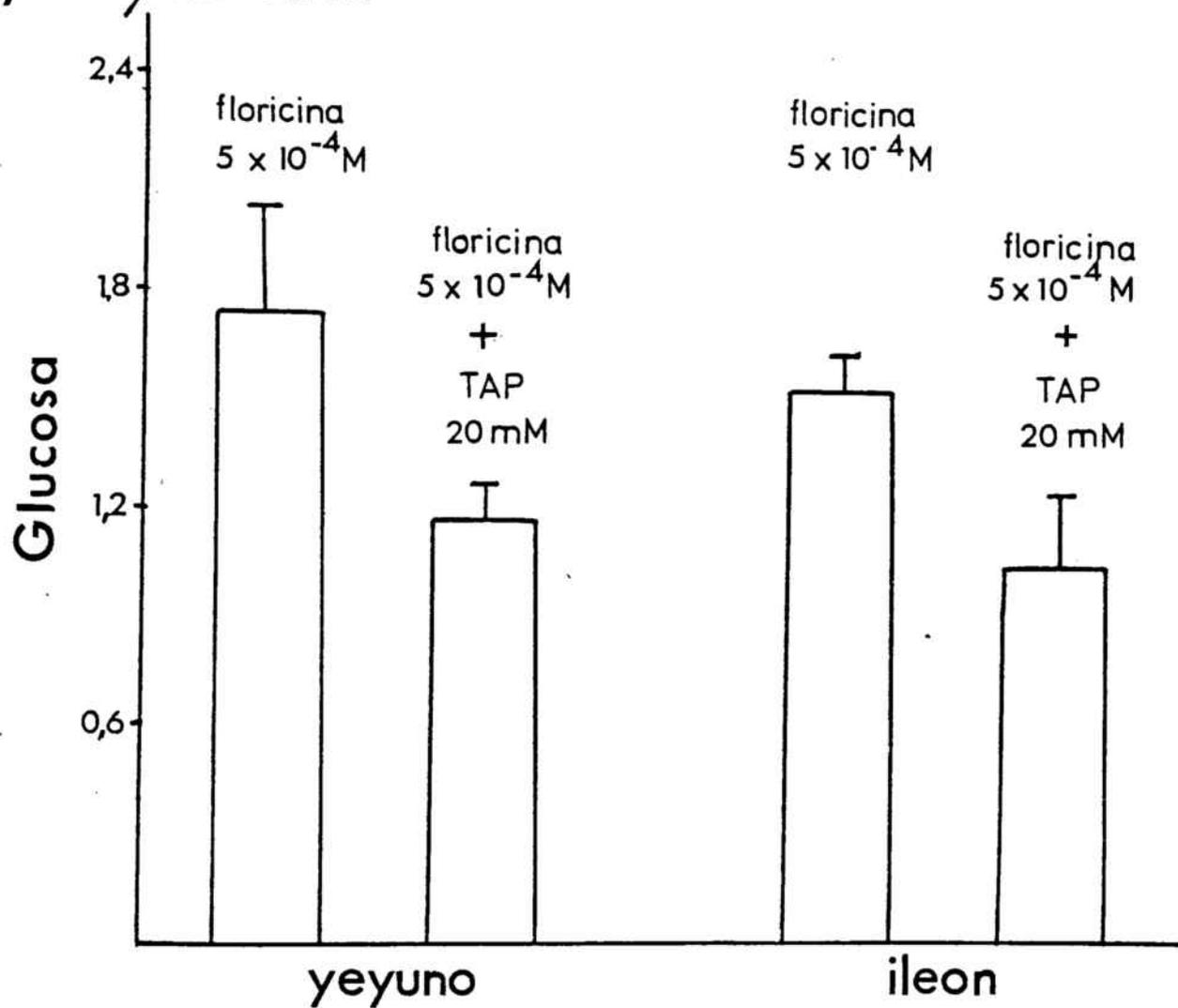
EFFECTO DE 2,4,6-TRIAMINOPYRIMIDINA (TAP) 20 mM SOBRE LA DIFUSION DE D-GLUCOSA 20 mM POR INTESTINO DELGADO DE RATA DE 2-3 MESES.

FIGURA 32

EFFECTO DE 2,4,6-TRIAMINO PIRIMIDINA (TAP) 20mM  
SOBRE LA DIFUSION DE D-GLUCOSA 20 mM EN RATAS  
DE 2-3 MESES.

Se representan los valores medios  $\pm$  error estándar.

$\mu\text{mol}/\text{cm}^2 \text{ 5 min}$



GLUCOSA $\mu\text{mol}/\text{cm}^2/30 \text{ min}$			
	CONTROL	FLORICINA $5 \times 10^{-4} \text{ M}$	AUMENTO SALIDA %
YEYUNO	$0,0329 \pm 0,0063^*$ (10) **	$0,1041 \pm 0,0036$ (6)	316
ILEON	$0,0186 \pm 0,0034$ (8)	$0,0653 \pm 0,0063$ (4)	351

TABLA XLIV

SALIDA DE GLUCOSA HACIA EL LUMEN INTESTINAL DESPUES DE PERFUNDIR SUERO FISIOLÓGICO A 3,5 ml/min DURANTE 30 MINUTOS EN RATAS DE 2-3 MESES Y EFECTO DE LA FLORICINA ANADIDA AL LIQUIDO DE PERFUSION

\* media  $\pm$  error estándar

\*\* número de animales

FIGURA 33

SALIDA DE GLUCOSA HACIA EL LUMEN INTESTINAL  
DESPUES DE PERFUNDIR SUERO FISIOLÓGICO  
DURANTE 30 MINUTOS EN RATAS DE 2-3 MESES  
Y EFECTO DE LA FLORICINA

Se representa la media  $\pm$  error estándar.

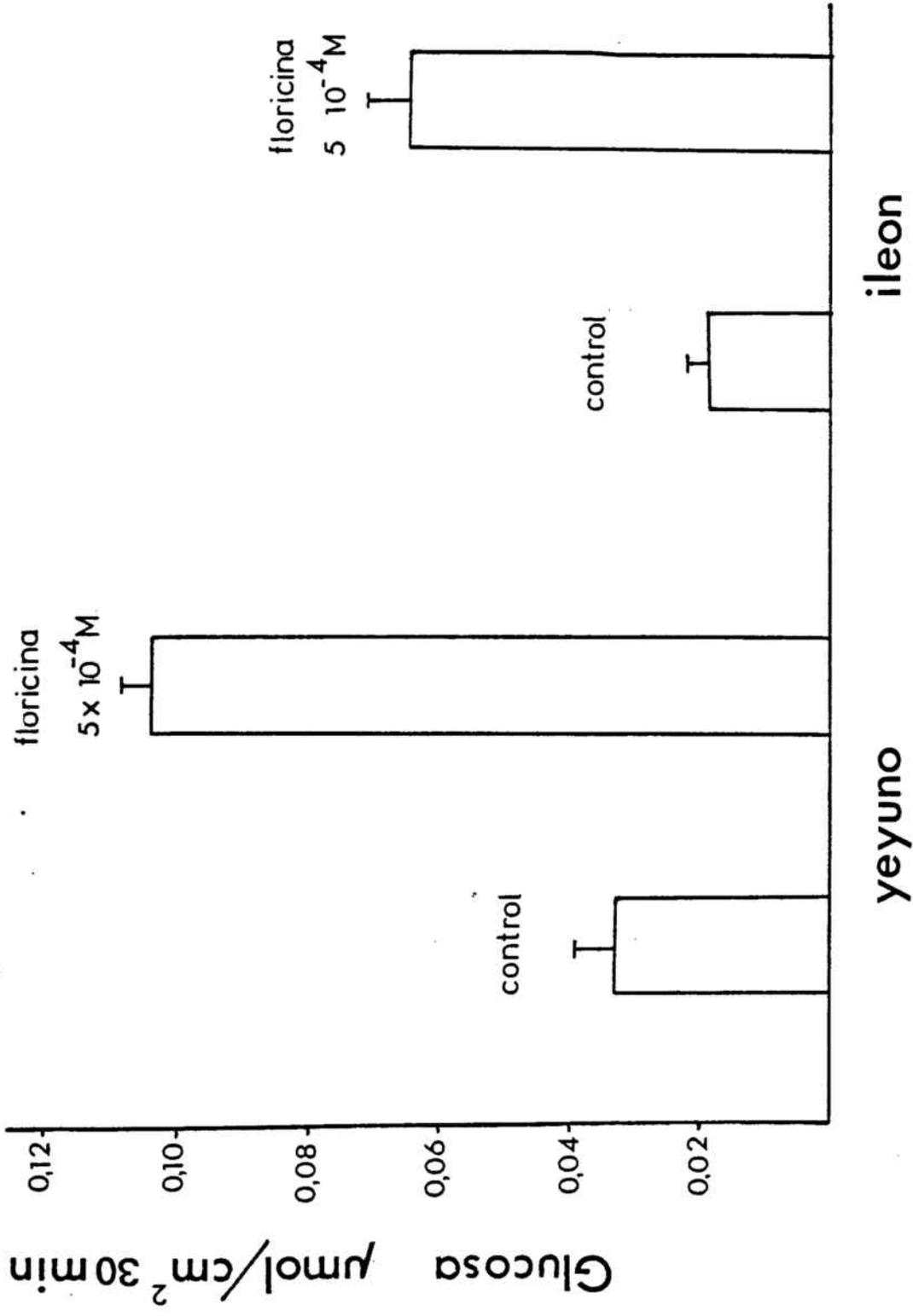


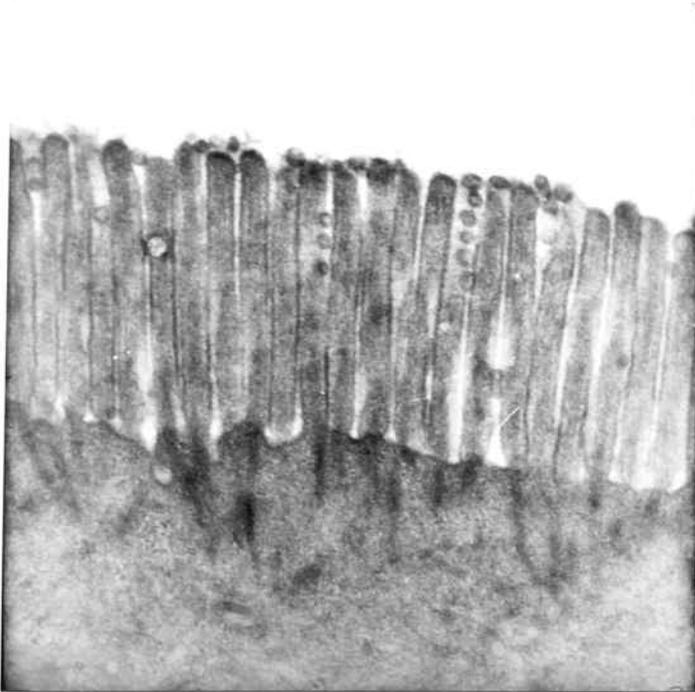
TABLA XLIV y en la Figura 33, donde así mismo se ve el incremento en la concentración del azúcar en el lumen, inducida por la presencia de floricina  $5 \times 10^{-4}$  M adicionada al líquido de perfusión.

La salida es superior en yeyuno que en íleon, tanto en los animales controles como en aquellos en los que se ha adicionado floricina al medio. El aumento en la salida inducido por la floricina es superior en el íleon que en el yeyuno (TABLA XLIV)

#### 4.9. MORFOLOGIA DE LOS ENTEROCITOS DE RATA DE DISTINTAS EDADES

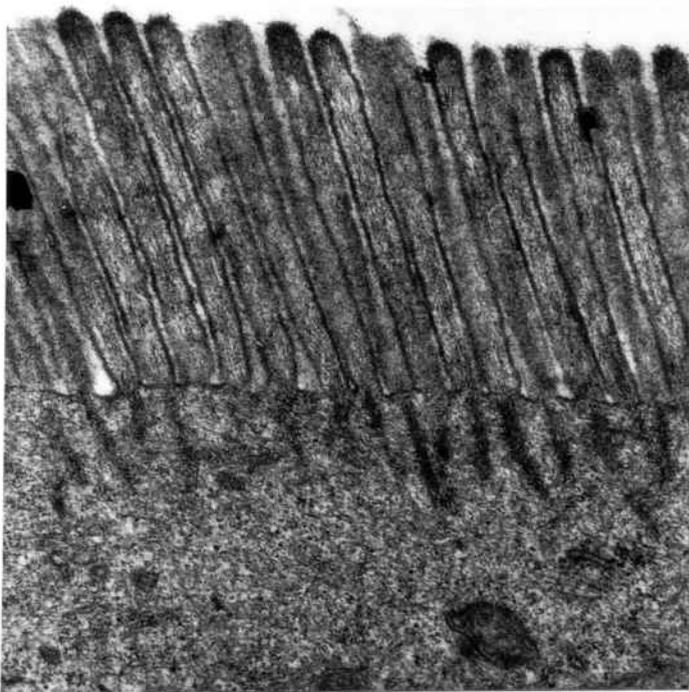
Se han realizado observaciones con microscopía electrónica y se ha medido la longitud de las microvellosidades tanto en yeyuno como en íleon de ratas de los tres grupos de edades de nuestro estudio. Se recogen en la TABLA XLV dichas longitudes expresadas en  $\mu\text{m}$ .

En las fotografías siguientes se aprecia el aspecto que presentan las microvellosidades correspondientes a cada zona intestinal y a cada grupo de edad estudiado.



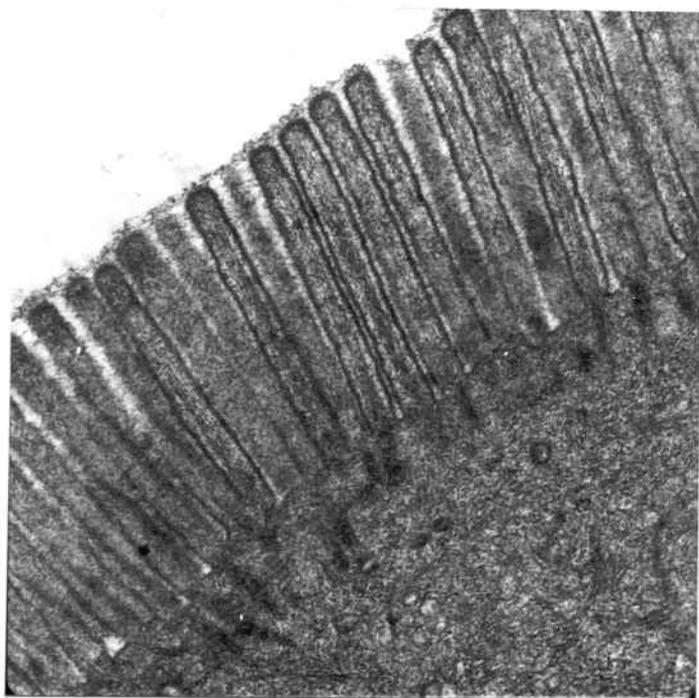
FOTOGRAFIA 4

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LAS MICROVELLOSIDADES  
DE YEYUNO DE RATA DE 21-23 DIAS ( x 35.840)



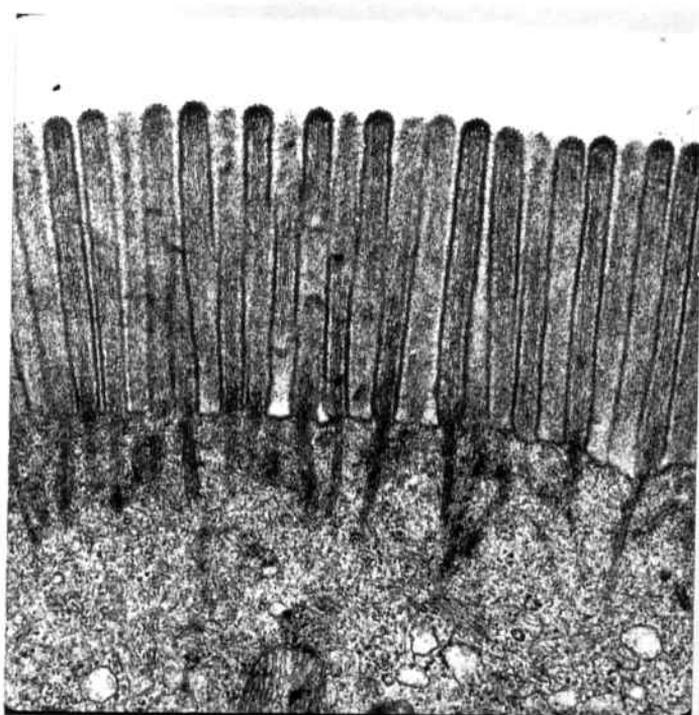
FOTOGRAFIA 5

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LAS MICROVELLOSIDADES  
DE ILEON DE RATA DE 21-23 DIAS ( x 35.840)



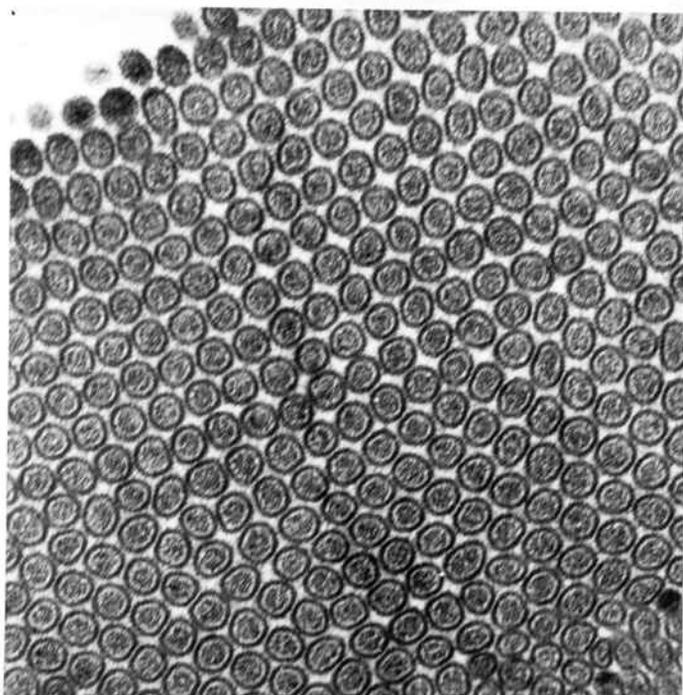
FOTOGRAFIA 6

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LAS MICROVELLOSIDADES  
DE ILEON DE RATA DE 21-23 DIAS ( x 35.840)



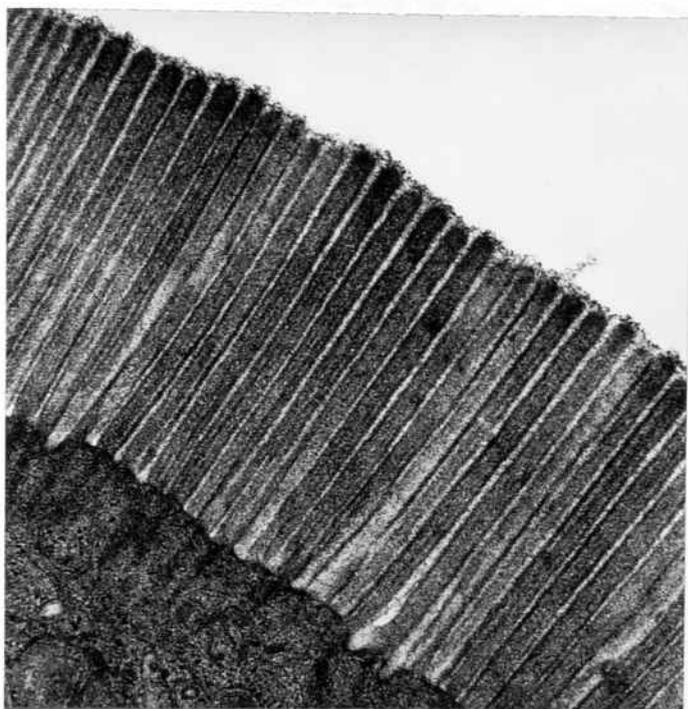
FOTOGRAFIA 7

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LAS MICROVELLOSIDADES  
DE YEYUNO DE RATA DE 2-3 MESES ( x 35.840)



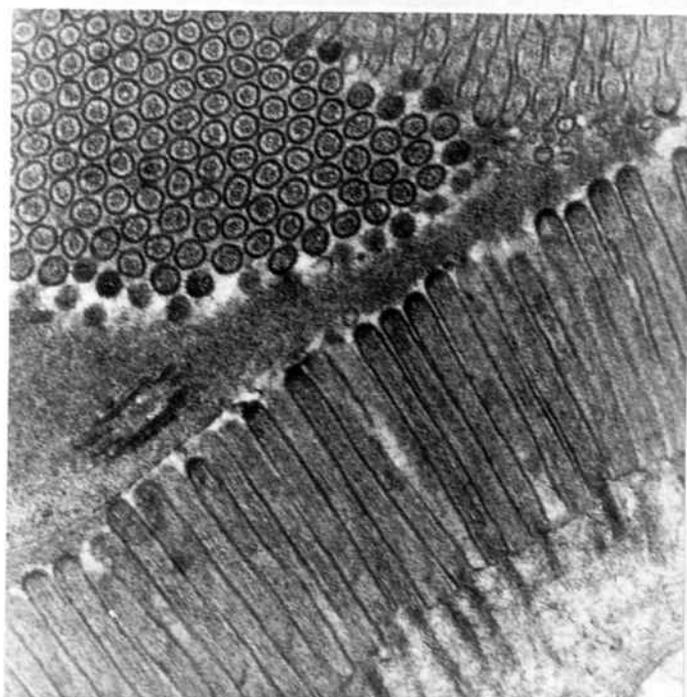
FOTOGRAFIA 8

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE UN CORTE TRANSVERSAL  
DE LAS MICROVELLOSIDADES DE YEYUNO DE RATA DE  
2-3 MESES ( x. 35.840)



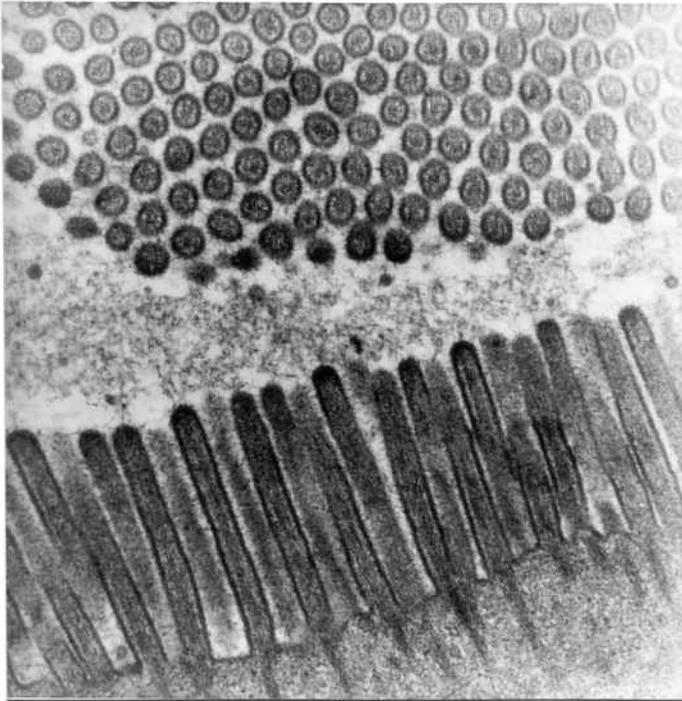
FOTOGRAFIA 9

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LAS MICROVELLOSIDADES  
DE ILEON DE RATA DE 2-3 MESES ( x 35.840)



FOTOGRAFIA 10

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LAS MICROVELLOSIDADES  
DE YEYUNO DE RATA DE 18 MESES Y DE UN CORTE TRANS\_  
VERSAL DE LAS MISMAS ( x 34.000)



FOTOGRAFIA 11

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LAS MICROVELLOSIDADES  
DE ILEON DE RATA DE 18 MESES Y DE UN CORTE TRANS\_  
VERSAL DE LAS MISMAS (x 34.000)

EDAD	ZONA INTESTINAL	LONGITUD MICROVELLOSIDADES ( $\mu$ )
21-23 días	YEYUNO	1,04
	ILEON	1,22
2-3 meses	YEYUNO	1,16
	ILEON	1,40
18 meses	YEYUNO	1,04
	ILEON	0,90

TABLA XLV

LONGITUD DE LAS MICROVELLOSIDADES DE ENTEROCITO DE INTESTINO DELGADO DE RATA DE DISTINTAS EDADES

## 5. DISCUSSION

La existencia de variaciones en la absorción intestinal de azúcares dependiendo del desarrollo del animal ha sido descrita por varios autores pero no todos los resultados son concordantes, pues mientras unos han observado una mayor absorción en los animales jóvenes (SCHARRER 1976, 1979, RAHEJA 1977, GAZA 1980, GUERRERO 1988) otros describen un efecto contrario (ROMMEL 1972, YOUNOSZAI 1978). Estas variaciones pueden deberse a las distintas técnicas y concentraciones de sustratos utilizadas que hacen los resultados difícilmente comparables entre sí.

Existen algunos caracteres de la absorción que no son tomados muy en cuenta en los diversos trabajos publicados o al menos no se hace mención de los mismos, lo que dificulta la comparación entre los resultados obtenidos en los diferentes laboratorios. Entre ellos podemos mencionar la existencia de un ritmo circadiano en la absorción de azúcares (FURUYA 1974, MURAKAMI 1977) presentando una distinta absorción según la hora del día en que se realice el ensayo (HORVATH 1950), por lo cual nosotros hemos realizado el experimento todos los días a la misma hora, entre las 8 y las 12 horas de la mañana, con el fin de obtener unos resultados comparables y reducir las posibles modificaciones debidas al cambio de horario.

Otros aspectos que han de ser tomados en cuenta son las modificaciones en la absorción observadas al variar el pH del medio (PONZ 1950, ORTIZ 1979) que hacen que éste se haya controlado y ajustado alrededor de 7.

La velocidad de perfusión afecta también significativamente a la absorción (ESPOSITO 1973, JODAL 1977, BRONK 1980) pudiendo ser motivo, así mismo, de distintos efectos sobre la absorción.

En cuanto a las edades elegidas para realizar el estudio, se han tomado tres edades separadas y representativas del distinto grado de desarrollo del animal. Teniendo en cuenta que el animal utilizado ha sido la rata, se ha elegido un grupo de 21-23 días, considerando que a esta edad, que corresponde al destete, es el momento en el cual el animal ha de cambiar de hábitos alimentarios, abandonando la alimentación láctea para recibir una dieta más variada. Como grupo intermedio: se ha elegido el comprendido entre 2 y 3 meses, en el cual se puede considerar que el animal ya es adulto y por último ratas de 18 meses que teniendo en cuenta el tiempo que suelen vivir estos animales se pueden considerar viejas.

### 5.1. INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LA CINÉTICA DE LA ABSORCIÓN DE D-GLUCOSA, D-GALACTOSA Y L-ARABINOSA

La absorción de D-Glucosa por yeyuno de rata es máxima tanto en su componente activo como pasivo en el grupo de animales de 21-23 días y decrece con el envejecimiento (Fig. 13).

Si observamos el componente de difusión vemos así mismo que disminuye al llegar a la edad adulta (2-3 meses) permaneciendo constante, mientras que la absorción por transporte activo sigue disminuyendo (TABLA III y IV).

Comparando las rectas de regresión que representan la difusión de D-Glucosa por yeyuno se observa una diferencia significativa ( $p < 0,01$ ) entre las jóvenes y las adultas, desapareciendo dicha diferencia al comparar adultas con viejas (TABLA X). En cuanto al descenso observado en el coeficiente de permeabilidad pasivo o difusión, con el envejecimiento podemos decir que concuerda con los resultados obtenidos por THOMSON (1979a) en conejos, atribuyendo este descenso a alteraciones en la membrana intestinal más que a cambios en el espesor de la capa no agitada ya que aún agitando el medio vigorosamente persiste la disminución de la constante de difusión y estando bajo estas condiciones se minimiza el efecto de la capa no agitada, reflejando

Mejor las propiedades de las membranas de las microvellosidades (WESTERGAARD 1974). En cuanto a la afinidad por el transportador de la glucosa, se ha visto "in vitro" que es superior en conejos jóvenes que en los adultos (THOMSON 1979a).

Se ha realizado un estudio similar en el ileon, observándose, así mismo, un descenso de la absorción con el envejecimiento (Fig. 17), disminuyendo también la constante de difusión al llegar a la edad adulta (TABLA IX y X).

Comparando las dos zonas vemos que el ileon presenta una mayor absorción por transporte activo que el yeyuno, si bien el transporte total es superior en esta zona. En 1949 FISHER y PARSONS ya observaron la existencia de un mayor transporte en el yeyuno que en el ileon y más recientemente PRITCHARD (1977) y SUND (1978), entre otros, describen un comportamiento similar.

En el yeyuno presenta un papel más importante la difusión, como viene indicado por unas constantes de difusión más elevadas, en especial en los animales adultos y en los viejos (TABLAS V y IX). Esto es lógico, desde el punto de vista de la fisiología digestiva ya que la D-Glucosa constituye el principal azúcar procedente de la digestión, siendo las concentraciones que alcanza en el extremo proximal del in-

testino suficientemente elevadas para absorberse principalmente por difusión (WILSON 1974) produciéndose así un ahorro energético.

Por el contrario en el ileon juega un papel más importante el transporte activo, hecho que puede explicarse a la inversa, es decir, en el extremo distal las concentraciones del azúcar serán menores requiriendo un mecanismo activo que pueda ir en contra de un gradiente de concentración.

Se ha visto que la absorción de glucosa es máxima en el yeyuno pero que en lo referente a la afinidad por el transportador es mayor en el ileon (DEBNAM 1978) y se ha observado por otra parte que la difusión de glucosa es mayor en el yeyuno (SUND 1978).

Otro azúcar que es transportado tanto de forma pasiva como activa es la D-Galactosa, con la cual hemos realizado un estudio similar observándose así mismo una mayor absorción en el grupo de 21-23 días. Pocos estudios se han realizado utilizando este sustrato en la rata a distintas edades y los datos al respecto nos muestran "in vitro" un mayor transporte activo en los animales de 9-10 días de edad (GUERRERO 1980).

Estudiando la absorción de D-Galactosa a través del yeyuno

a tres edades distintas vemos que hay un descenso en el transporte activo de forma progresiva con el envejecimiento (Fig. 21) de forma similar al observado para la D-Glucosa en esta misma zona (Fig. 13). Las constantes de difusión sufren así mismo un descenso (TABLA XIV) y si comparamos las rectas de regresión que representan la difusión para las tres edades se observa una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre los tres grupos (TABLA XV).

La absorción de D-Glucosa por el yeyuno en el grupo de 21-23 días es superior al de D-Galactosa mientras que en los otros dos grupos es practicamente igual o ligeramente superior como han visto otros autores (ORTIZ 1979, SCHARRER 1979), dependiendo de la concentración inicial del sustrato.

En animales de distintas edades, no se habían realizado estudios de absorción de azúcares que atraviesen el intestino sólo por difusión por lo que consideramos de interés estudiar la absorción de L-Arabinosa por yeyuno en los tres grupos de nuestro trabajo. Se ha visto que la difusión disminuye al pasar a la edad adulta, de modo similar a lo encontrado para la D-Glucosa y la D-Galactosa en yeyuno de rata, siendo los valores de la constante de difusión bastante similares a los encontrados para la D-Glucosa (TABLAS V y XIX).

La tasa de absorción total en los animales de 21-23 días sigue este orden: D-Glucosa > D-Galactosa > L-Arabinosa, siendo las constantes de difusión aproximadamente iguales para la D-Glucosa y la L-Arabinosa y éstas a su vez mayores que la que corresponde a la D-Galactosa. Para el grupo de 2-3 meses observamos una constante de difusión para la D-Glucosa similar a la de la D-Galactosa, resultados que concuerdan con los obtenidos por ILUNDAIN (1979) utilizando ratas de una edad semejante.

Teniendo en cuenta que los estudios se han realizado "in vivo", a la luz de nuestros resultados podemos decir que del mismo modo que postula ROBINSON (1980) es estas condiciones juega un papel muy importante la difusión.

## 5.2. EFECTO DEL ION SODIO SOBRE LA ABSORCION INTESTINAL DE D-GLUCOSA A DISTINTAS EDADES.

Se sabe que el ion sodio es necesario para el transporte activo de azúcares al acoplarse junto a éstos a un transportador existente en la membrana del borde en cepillo, formando un complejo ternario (CRANE 1960). Esta dependencia del sodio ha sido demostrada utilizando técnicas "in vitro" (RIKLIS 1958, BHILER 1969 a,b, CRANE 1976) e "in vivo" (LARRALDE 1962, CSAKY 1963, ORTIZ 1979, DEBNAM 1979) aunque han habido resultados contradictorios (SALTZMAN 1972,

FORSTER 1973, BEYLER 1977).

Hemos considerado interesante realizar el estudio del efecto del ion sodio sobre la absorción intestinal "in vivo" en animales de distintas edades para poder comprobar que resultador eran los correctos y en especial para ver este efecto a lo largo del desarrollo de la rata, pues no se han realizado estudios similares. Se ha practicado recirculación de una disolución de D-Glucosa 10 mM con distintas concentraciones de sodio, manteniendo en todo momento la isotonicidad del medio.

Nuestros resultados indican que, a medida que decrece la cantidad de sodio en el medio, se produce una reducción de la absorción de D-Glucosa para las tres edades y en las dos zonas intestinales, no obstante comparando yeyuno e ileon se ve que el comportamiento frente al sodio no es el mismo. Por un lado se aprecia que la inhibición producida en el ileon, al ir eliminando el sodio del medio, es superior a la del yeyuno (TABLAS XXIV y XXX) y que a esta zona le corresponde una inhibición similar para las tres edades. En el ileon además de producirse una inhibición mayor que en el yeyuno, ésta es máxima en los animales más jóvenes.

Teniendo en cuenta que la dependencia que presenta la absorción de azúcares de la presencia de sodio es indicativa de

un mecanismo de transporte activo (CRANE 1960, 1977, SCHULTZ 1974), y dado que en el ileon es mayor que en el yeyuno, se confirma lo propuesto anteriormente del mayor papel que desempeña el transporte activo en el ileon.

De acuerdo con ORTIZ (1979) hemos visto que es en el primer minuto de la perfusión cuando la inhibición es mayor, existiendo incluso una correlación lineal inversa entre la concentración de sodio en el medio y la absorción de D-Glucosa tanto en yeyuno (Fig. 27) como en ileon (Fig. 31).

Comparando ambas zonas a distintas edades, se observa que en el yeyuno las tres rectas no presentan diferencias significativas entre las pendientes (TABLA XXV), mientras que en el ileon a los 21-23 días la pendiente es mayor, lo que indica que la dependencia del ion sodio es superior en esta zona y a esta edad (TABLA XXXI)

Hemos ampliado el estudio determinando la absorción en períodos de 1 minuto y añadiendo al medio sin sodio floricina para inhibir totalmente el posible transporte activo producido por la salida de sodio hacia el lumen (SALTZMAN 1972, SCHULTZ 1974, SEMENZA 1975). En los resultados se aprecia (TABLA XXXIV) que al añadir floricina se produce un ligero aumento de la inhibición y del mismo modo que en los resulta-

dos anteriores, en el ileon la inhibición es mayor, siendo en el grupo de menor edad (21-23 días) máxima, aunque no se alcanza nunca el 100 %, por que la difusión aún desempeña un papel importante en la absorción de azúcares, bajo estas condiciones.

OLSEN (1968) observó que la absorción de glucosa era sólo dependiente del ion sodio cuando las concentraciones de glucosa eran inferiores a las plasmáticas. Nosotros utilizando una concentración superior a la plasmática, hemos visto una cierta dependencia del ion sodio, pues al suprimir totalmente éste, todavía sigue existiendo absorción, y ésta corresponde al azúcar absorbido por difusión.

### 5.3. SALIDA DE SODIO HACIA EL LUMEN INTESTINAL EN RATAS DE DISTINTAS EDADES.

Varios trabajos han sugerido que la osmolaridad del contenido intestinal, ya sea hipo o hipertónico con respecto al plasma es ajustado rapidamente para llegar a una isotonicidad (VISSCHER 1945, CURRAN 1957, SCHULTZ 1978, NALIN 1972) mediante dos mecanismos: movimiento de agua y de electrolitos principalmente sodio. En general, las soluciones hipotónicas provocan secreción de sodio y absorción de agua y las hipertonicas secreción de agua y absorción de sodio (FORDTRAN 1966, DAVENPORT 1975), siendo un proceso rápido (VISSCHER 1945, NALIN 1972) especialmente en el duodeno (PHILIPS 1972)

Cuando el lumen es perfundido con soluciones isotónicas con el plasma, la respuesta depende del soluto utilizado, así con cloruro sódico isotónico, la osmolaridad del lumen no varía, siendo los movimientos netos de agua y de sodio mínimos, por el contrario con manitol isotónico la osmolaridad del lumen aumenta por la salida de sodio, obteniéndose una concentración final del mismo, entre 7 y 13 mM, mayor en duodeno que en ileon (MILLER 1979).

Existe una correlación lineal entre la salida de agua y la osmolaridad, siendo mayor dicha salida en el duodeno que en el ileon, debido a que en el duodeno se ha de igualar la tonicidad al entrar el contenido gástrico (MILLER 1979)

El movimiento de sodio desde el plasma hacia el lumen se supone que tiene lugar a través de las uniones intercelulares (FRIZELL 1972, SCHULTZ 1972) y se ha postulado que el sodio se concentra en el extremo apical del canal intercelular para proporcionar una solución hipertónica que aporte el gradiente osmótico para la absorción de agua. El gradiente osmótico en el canal intercelular (DIAMOND 1966, 1971) ha sido estudiado por JODAL (1978) y HALLBACK (1978) en el epitelio intestinal "in vivo" proponiendo un modelo de intercambio contracorriente

a lo largo del microvilli con creciente osmolaridad desde la base hacia el extremo apical.

Estudios sobre la salida de sodio a distintas edades sólo se han hecho en casos de diarrea experimental en los que se perfunden soluciones hipertónicas, observándose una mayor pérdida de agua, cloruro y sodio en ratas jóvenes que en las adultas (YOUNOSZAI 1980).

En nuestros resultados podemos observar que cuando en el lumen existe sodio, las concentraciones iniciales y finales no presentan diferencias estadísticas significativas, pero si no está presente, sí que hay una salida de sodio. Cuando la perfusión se realiza durante 20 minutos se observa una salida de sodio en las ratas de 21-23 días y en las de 18 meses, siendo superior en el yeyuno que en el ileon, de modo similar a lo encontrado por (YOUNOSZAI (1980) para el caso del ion bicarbonato cuando éste no está presente en el líquido de perfusión. Por el contrario en las ratas de 2-3 meses no se aprecia una secreción de sodio (TABLA XXXVIII)

Para ver el comportamiento del ion sodio en tiempos cortos se ha realizado la experiencia con una perfusión de 1 minuto de duración y se ha adicionado floridina para

estudiar su influencia sobre la secreción de sodio.

De nuestros resultados (TABLA XLII) podemos deducir que en los tres grupos de edades se observa una secreción de sodio aunque en muy pequeña cantidad, no existiendo diferencias significativas entre las edades estudiadas.

La presencia de floricina en el medio supondría una salida mayor de sodio en el caso de bloquear el posible transporte activo de D-Glucosa. No se observa este fenómeno, lo cual indica que en ausencia de sodio en el medio, la glucosa se absorbe, como es sabido, por difusión simple, realizándose la secreción de sodio por mecanismos no relacionados con el proceso de transporte activo de azúcares, pudiendo tener lugar a través de las uniones intercelulares tal como han sugerido FRIZELL (1972) y SCHULTZ (1972). Las diferencias observadas entre las dos zonas y a las distintas edades podrían ser debidas a diferencias en las características de dichas uniones.

#### 5.4. EFECTO DE 2,4,6-TRIAMINOPYRIMIDINA (TAP) SOBRE LA ABSORCIÓN INTESTINAL DE D-GLUCOSA

Se ha postulado que una de las vías de entrada de los azúcares por difusión es la ruta paracelular (ROBINSON 1980), que se realizaría a través de las uniones estrechas

(FROMTER 1972), pues se ha visto que eran permeables al agua y a iones pequeños; así mismo, se ha comprobado "in vitro" que dichas uniones eran permeables al lantano (MACHEN 1972) y en el colon de rata se ha demostrado "in vitro" la permeabilidad a este metal, disminuyendo por efecto de 2,4,6-Triaminopirimidina (SPECHT 1977).

Otros autores han observado que el TAP producía una inhibición de la permeabilidad de las uniones estrechas para los cationes, en tejidos como la vesícula biliar, intestino delgado y plexo coroide (MORENO 1974, 1975, SIMMONS 1976).

En contra de la hipótesis de ROBINSON (1980), de estudios realizados "in vitro" se ha concluido que el componente paracelular del transporte de azúcares a través del intestino delgado era muy pequeño (LOESCHKE 1971, RINALDO 1975, BOYD 1979).

Si la difusión pasiva de D-Glucosa por intestino delgado de rata tiene lugar, en parte, a través de la ruta paracelular tal como postula ROBINSON (1980), el TAP tendría que actuar provocando una inhibición de la misma. De nuestros resultados podemos deducir que, efectivamente, se produce una reducción en la absorción, que es del 32% tanto en yeyuno como en ileon (TABLA XLIII)

Aunque con la concentración de TAP utilizada (20 mM) no tenemos la seguridad de que se impermeabilicen totalmente las uniones estrechas, parece bastante probable que más del 50% de la absorción de D-Glucosa, por difusión pasiva, se realice por vía transcelular, al menos, a la concentración utilizada en nuestros experimentos.

Dado que, como hemos visto anteriormente, la absorción de D-Glucosa, por difusión pasiva, es mayor en yeyuno que en ileon, y el efecto producido por TAP es similar en las dos zonas, se puede postular que la participación de la ruta paracelular en la difusión pasiva es semejante en yeyuno e ileon, mientras que la ruta transcelular es más importante en yeyuno que en ileon, bien por su mayor superficie total de absorción, por una mayor permeabilidad del borde en cepillo de los enterocitos o por un mayor aclaramiento del espacio subepitelial que favorece el gradiente de absorción.

El comportamiento de la D-Glucosa diferiría del encontrado para otros iones electrolitos como la lisina, del cual se ha visto que tanto "in vitro" (MUNCK 1974) como "in vivo" (ANTONIOLI 1978) pasa en muy poca cantidad o no pasa a través de las uniones estrechas.

## 5.5. SALIDA DE GLUCOSA HACIA EL LUMEN INTESTINAL

AXON (1971, 1975) utilizando intestino de conejo, vió que la salida hacia el lumen, de un azúcar no transportable, era proporcional a la concentración plasmática del mismo, mientras que, para los azúcares transportables sólo tenía lugar si se adicionaban elevadas concentraciones de floricina, del orden de  $10^{-3}$  M y  $10^{-2}$  M, al líquido de perfusión, para evitar la reabsorción. Sin embargo otros autores (ATKINSON 1957, COCCO 1965), en intestino de rata, no han observado una secreción de glucosa, "in vivo", aun añadiendo floricina  $2 \times 10^{-3}$  M en el líquido de perfusión.

Nuestros resultados no concuerdan con los obtenidos por AXON (1975), ya que observamos secreción de glucosa, activamente transportable, tanto en ausencia como en presencia de floricina en el lumen. Tampoco con los de COCCO (1965) y ATKINSON (1957) pues utilizando la misma especie animal, apreciamos una secreción de glucosa en la luz intestinal, a concentraciones plasmáticas fisiológicas.

En el primer caso, las diferencias pueden ser explicadas porque utilizan una mayor velocidad de perfusión y circuito abierto, por lo que quizás, la cantidad de glucosa

secretada no pudo ser detectada con la técnica analítica utilizada.

No se han realizado estudios comparativos, en cuanto a la secreción de azúcares, entre el yeyuno y el ileon. Como se desprende de nuestros resultados, la secreción de glucosa es mayor en yeyuno que en ileon. Al añadir floricina, que previene la reabsorción del azúcar, aparece incrementada su concentración en el lumen intestinal. A pesar de producirse un aumento de la concentración por la presencia de floricina ( $5 \times 10^{-4}M$ ) en el lumen, cuantitativamente sigue siendo superior la secreción en el yeyuno que en el ileon, si bien se ha de resaltar que al comparar el aumento provocado por la floricina en las dos zonas, es mayor en el ileon.

La mucosa intestinal además de permitir el paso de sustancias desde el lumen hacia el plasma actúa como barrera que impide el movimiento inverso, es decir, del plasma al lumen. Según AXON (1975), los inhibidores competitivos de los mecanismos de transporte activo de la absorción de glucosa anulan dicha barrera, al encontrarse en el lumen intestinal, lo que sugiere que estos mecanismos están implicados en el mantenimiento de esta barrera. Nuestros resultados no soportan exactamente esta hipótesis. Los mecanismos de transporte activo no influirían

directamente en la salida de glucosa hacia el lumen, sino que reabsorberían la glucosa secretada disminuyendo su concentración en la luz intestinal. Al bloquear estos mecanismos con floricina, no es que anulen la barrera que se opone a la secreción de glucosa, sino que al inhibirse la reabsorción, permanece más glucosa en el líquido de perfusión dando la falsa impresión de que ha aumentado la secreción. Desde el punto de vista fisiológico, este podría tener interés en los períodos interdigestivos, en los que la concentración de glucosa en la luz intestinal es menor que la plasmática, produciéndose una salida de este azúcar hacia el lumen intestinal. El mecanismo activo tendería, actuando en contra de gradiente de concentración, a evitar estas pérdidas.

Volviendo a las diferencias observadas entre el comportamiento del yeyuno y del ileon referentes a la secreción de glucosa parece estar de acuerdo con lo propuesto anteriormente por nosotros, que la absorción por transporte activo desempeña un papel más importante en el ileon que en el yeyuno. La salida de glucosa es compensada por una entrada por transporte activo, en especial debido a las pequeñas cantidades de que intervienen, y al ser más importante este mecanismo en el ileon, el resultado final es una menor salida. Ahora bien, cuando se intercepta el transporte

activo, utilizando floricina, por ser mayor éste en el ileon se observa un aumento de la salida del azúcar superior en este tramo intestinal.

#### 5.6. MORFOLOGIA DEL EPITELIO INTESTINAL DE RATA A DIFERENTES EDADES

El descenso de la absorción intestinal de monosacáridos puede ser debido a factores bioquímicos relacionados con el transporte transepitelial de azúcar o a factores fisiológicos relacionados con una variación en la superficie de absorción. En cualquier caso era de interés el estudiar la morfología de las microvellosidades del intestino de rata a distintas edades.

SCHARRER en 1979 observó un descenso en la absorción de azúcares con la edad, en el cordero, viendo que las vellosidades eran más cortas en las ovejas de 1 a 8 días que en las de 2-3 meses. En cuanto a la estructura de las microvellosidades difiere en los grupos de 2-3 meses según el tipo de alimentación recibida consistente en forraje o exclusivamente láctea, así en este último grupo y en los de 1-8 meses se observan unas microvellosidades más largas, hecho que el autor pretende relacionar con el mayor grado de absorción observado en estos animales.

A pesar de los estudios realizados por SCHARRER (1979) en el cordero, para explicar la mayor absorción intestinal de azúcares en los animales jóvenes, nuestros resultados no muestran un comportamiento similar en la rata. Si nos atenemos sólo a la longitud de las microvellosidades (TABLA XLV) podemos decir que las mismas aparecen más largas en el grupo de edad intermedia (2-3 meses) que en los de 21-23 días o en los de 18 meses. Podría ser debido a una maduración que supondría un crecimiento y posterior acortamiento como consecuencia del envejecimiento que en ningún caso sería indicativo de los resultados encontrados en cuanto a la absorción se refiere, pues en todo caso sería necesario conocer el número de lugares en cada microvellosidad aptos para el transporte activo.

El único aspecto que parece permanecer constante es la mayor longitud observada en el ileon, excepto en el grupo de mayor edad que se da a la inversa.

## 6. CONCLUSIONES

1. La absorción de D-Glucosa y D-Galactosa por yeyuno de rata "in vivo" es máxima en los animales de 21-23 días, observándose con el desarrollo de los mismos un descenso en la absorción tanto por transporte activo como por difusión.
2. La absorción de D-Glucosa por ileon de rata "in vivo" también disminuye con el crecimiento del animal.
3. La absorción total de D-Glucosa por yeyuno es superior a la del ileon, no obstante en esta zona un mayor porcentaje pasa por transporte activo.
4. La difusión de L-Arabinosa por yeyuno de rata es superior en los animales más jóvenes.
5. A medida que se disminuye la cantidad de sodio en el líquido de perfusión se observa una inhibición de la absorción de D-Glucosa por yeyuno e ileon de rata, siendo en el yeyuno similar para las tres edades estudiadas y del orden del 50% en el primer minuto de perfusión y en el ileon la inhibición es considerablemente mayor en los animales más jóvenes, del orden del 90%.
6. La máxima inhibición se observa en el primer minuto de la perfusión tanto en yeyuno como en ileon de los tres grupos de nuestro estudio, existiendo una correlación inversa entre la cantidad de sodio en el medio y la absorción de D-Glucosa.

7. En el yeyuno la pendiente de la recta que representa dicha correlación es similar en las tres edades, mientras que en el ileon es superior en las ratas de 21-23 días, siendo indicativo de una mayor dependencia del ion sodio en esta zona y a esta edad.
8. La perfusión de D-Glucosa 10 mM durante 1 minuto en un medio en el que se ha sustituido el ion sodio por Tris-HCl, se acompaña de una salida de sodio hacia el lumen en yeyuno e ileon de los tres grupos de animales, siendo superior en el primer tramo intestinal. La presencia de floricina  $5 \times 10^{-4}$  M en el medio no afecta a la secreción de este ion.
9. 2,4,6-Triaminopirimidina (TAP) 20 mM provoca una inhibición del 32% en la difusión de D-Glucosa 20 mM a través de yeyuno e ileon de rata de 2-3 meses, lo que indica que a esta concentración no todo difunde a través de la ruta transcelular.
10. La salida de glucosa desde el plasma hacia el lumen intestinal al perfundir suero fisiológico a través del intestino delgado de ratas de 2-3 meses es mayor en yeyuno que en ileon y se ve incrementada al añadir floricina.
11. El incremento en la salida de glucosa inducido por la presencia de floricina es mayor en el ileon, confirmandose la hipótesis sobre el papel más importante que

desempeña el transporte activo en el último tramo del intestino delgado.

12. La longitud de las microvellosidades de los enterocitos de yeyuno e ileon de rata es superior en los animales adultos seguido por los más jóvenes y por último los viejos, no correlacionandose con las variaciones en cuanto a la absorción intestinal de azúcares.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- ADAMIC, S., BIHLER, I. (1967) Mol. Pharmacol. 3, 188-194
- AGAR, W.T., HIRD, F.J.R., SIDHU, G.S., (1954) Biochim. Biophys. Acta 14, 80-84
- ALTHAUSEN, T.L., ANDERSON, E.M., STOCKHOLM, M. (1939) Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 40, 432
- ALTMANN, G.G., ENESCO, M. (1967) Am. J. Anat. 120, 319
- ALVARADO, F., CRANE, R.K. (1962) Biochim. Biophys. Acta 56, 170
- ALVARADO, F., (1967) Biochim. Biophys. Acta 135, 483-495
- ALVARADO, F. (1976) En: Intestinal ion transport pp 117-152, Ed. J.W.L. Robinson, Lancaster, Medical and Technical Publ. Co.
- ALVARADO, F. (1979) J. Physiol. 292, 77P-78P
- ANAST, C., KENNEDY, R., VOLK, G., ADAMSON, L. (1965) J. Lab. Clin. Med. 65, 903-911
- ANNEGERS, J.H. (1964) Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 116, 933-936
- ANTONIOLI, J.A., JOSEPH, C., ROBINSON, J.W.L. (1978) Biochim. Biophys. Acta 512, 171-191
- ARMSTRONG, W. Mc.D. (1975) En: Intestinal Absorption and Malabsorption pp 45-66, Ed. T.Z. Csaky, Raven Press, Newletl. N.Y
- ATKINSON, R.M., PARSONS, B.J., SMYTH, D.H. (1957) J. Physiol. (Lond.) 135, 581-589

- AXON, A.T.R. (1971) Gut 12, 856
- AXON A.T.R., CREAMER, B. (1975) Gut 16, 99-104
- BAKER, R.D., GEORGE, M.J. (1971) Biochim. Biophys. Acta 225, 315
- BÁRÁNY, E.H., SPERBER, E. (1942) Arkh. Zool. 34A, 1-31
- BARBER, D.C., LEVIN, R.J., MITCHELL, L. (1978) J. Physiol. (Lond.) 276, 54P-55P
- BARRY, B.A., MATTHEWS, J. (1961) J. Physiol. 157, 279-288
- BARRY, R.J.C., DIKSTEINS, S., MATTHEWS, J., SMYTH, D.H. (1964) J. Physiol. (Lond.) 171, 316-338
- BARRY, R.J.C., SMYTH, D.H., UDE, J.F. (1969) Life Sci. 8 (1), 131-133
- BATT, E.R., SCHACHTER, D. (1969) Am. J. Physiol. 216 (5) 1064-1068
- BECK, L.V. (1942) J. Biol. Chem. 143, 403
- BELLO, J., FERNANDEZ-OTERO, P., DURAN, E., LARRALDE, J. (1963) Rev. esp. Fisiol. 19, 63
- BENNETT, H.S. (1956) J. Biophys. Biochem. Cytol. Suppl. 2, 99
- BEYER, R., FORSTER, H. (1977) Nutr. Metab. 21, 259-261
- BIBER, B., LUNDGREN, O., SVANVIK, J. (1973) Acta Physiol. Scand. 89, 227-238
- BIHLER, I., CRANE, R.K. (1961) Fed. Proc. 20, 1

- BIHLER, I., HOWKINS, K.A., CRANE, R.K. (1962) Biochim. Biophys. Acta 59, 94
- BIHLER, I., KIM, N.D., SAWH, P.C. (1969) Can. J. Pharmacol. 47, 525
- BIHLER, I. (1960) Biochim. Biophys. Acta 183, 169
- BIHLER, I., CYBULSKY, R. (1976) Biochim. Biophys. Acta 441, 429-437
- BILLICH, C.O., LEVITAN, R. (1969) J. Clin. Invest. 48, 1336-1347
- BINDER, H.J., RAWLINS, C.L. (1973) Am. J. Physiol 225, 1235-1239
- BINGHAM, J.K., NEWHEY, H., SMYTH, D. H. (1966) Biochim. Biophys. Acta 130, 281
- BOASS, A., WILSON, T.H. (1962) Fed. Proc. 21, 469
- BOGNER, P.H., HAINES, A. (1961) Proc. Soc. Exp. Biol. 107, 265-267
- BOGNER, P.H., HAINES, I.A. (1964) Am. J. Physiol. 207 (1) 37-41
- BOGNER, P.H. (1965) Biol Neonat. 9, 1-9
- BOOTH, C.C., KANAGHINIS, T. (1963) J. Physiol (Lond. ) 167, 18P
- BORGSTROM, B. (1960) J. Clin. Invest. 39, 809-815

- BORLE, A.B., KEUTMANN, H.T., NEUMAN, W.F. (1963) Am. J. Physiol. 204, 1521-1536
- BOSACKOVA, J., CRANE, R.K. (1965) Biochim. Biophys. Acta 102, 423-435
- BOYD, C.A.R., PARSONS, D.S. (1979) J. Physiol. (Lond.) 287, 371-391
- BOYNE, R., FELL, B.F., ROBB, I. (1966) J. Physiol. 183, 570-575
- BRONK, J.R., INGHAM, P.A. (1979) J. Physiol. (Lond.) 289, 99-113
- BULLOUGH, W.S. (1948) Proc. R. Soc. London Ser. B. 135, 212-233
- BURDETT, K., SCHNEIDER, R. (1971) J. Physiol 215, 30P
- BURGEM, A.S.V. (1957) Can. J. Biochem. Physiol 35, 569
- BUTT, J.H., WILSON, H. (1968) Am. J. Physiol 215 (6), 1468-1477
- CALINGAERT, A., ZORZOLI, A. (1965) J. Geront. 20, 211-214
- CAPRARO, V., BIANCHI, A., LIPPE, C. (1963) Arch. Sci. Biol. 47, 238
- CARCHON, H., BURY, F., KACZMARSKI, M., EGGERNONT, E. (1978) Acta Gastroenterol. Belg. 41, (1-2), 28-31
- CASTELLARNAU, C., MORETO, M. (1979) Rev. esp. Fisiol. 35, 327-330

- CLARK, W.G., MacKay, E.M. (1942) Am. J. Physiol. 137, 104
- CLARK, S.L. (1959) J. Biophys. Biochem. Cytol. 5, 41
- CLARKE, R.M. (1971) J. Anatomy 109, 352
- CLARKE, R.M. (1972) J. Anatomy 112, 27-33
- CLARKSON, T.W., ROTHSTEIN, A. (1960) Am. J. Physiol. 199,  
898-906
- CLAUDE, P., GOODENOUGH, D.A. (1973) J. Cell. Biol. 58,  
390-400
- COCOO, A.E., HENDRIX, T.R. (1965) Bull. Johns. Hopk. Hos.  
117, 296-305
- CODE, C.F. (1960) Prespect. Biol. Med. 3, 561-562
- COOKE, H.J., DAWSON, D.C. (1978) Am. J. Physiol. 234,  
E257-E261
- COOKE, H.J., PFANKUCHE, L., COOKE, A.R. (1980) Am. J.  
Physiol 239, G306-G310
- CORDERO, N., WILSON, T.H. (1961) Gastroenterol. 41,  
500-504
- CORI, C.F. (1925) J. Biol. Chem. 66, 691-715
- CORI, C.F., CORI, G.F. (1927) J. Biol. Chem. 73, 555
- CORTES, J., MORETO, M., GOÑALONS, E., SAURA, E., GRIS, P.  
TORRALBA, A. (1977) XVI Congr. Nal. Soc. Esp. C. Fisiol.  
Bellaterra A.192

- CRAMER, C.F., HAQQ, T.A. (1963) Can. J. Biochem. 41,  
127-130
- CRANE, R.K., WILSON, T.H. (1958) J. Appl. Physiol. 12,  
145-146
- CRANE, R.K. (1960a) Physiol. Rev. 40, 789-825
- CRANE, R.K., MANDELSTAN, P. (1960b) Biochim. Biophys.  
Acta 45, 460
- CRANE, R.K. (1962) Fed. Proc. 21, 891-895
- CRANE, R.K. (1968) En: Handbook of Physiology Sec. 6  
Alimentary Canal Vol. II. Intestinal Absorption. Ed.  
Am. Physiol.Soc. Washington D.C.
- CRANE, R.K. (1977) Rew. Physiol. Biochem. Pharmacol.  
78, 99-159
- CSAKY, T.Z., ZOLLOCOFFER, L. (1960) Am. J. Physiol. 198,  
1056
- CSAKY, T.Z. (1963) Fed. Proc. 22, 3-7
- CURRAN, P.F., SOLOMON, A.K. (1957) J. Gen. Physiol. 41,  
143-168
- CURRAN, R.C., CREAMER, B. (1963) J. Pathol. Bacteriol.  
86, 1-8
- CHADVICK, V.S., PHILLIPS, S.F., HOFMANN, A.F. (1976)  
FEBS- Symposium on the biochemistry of membrane transport,  
Zurich Abstract. P.210

- CHENG, H., BJERKNES, M. (1977) Anat. Rec. 187, 577 (abst)
- CHRISTENSEN, H.N., FELDMAN, B.H., HASTINGS, A.B. (1963)  
Am. J. Physiol. 205, 255-260
- DANIELLI, J.F. (1954) Symposia Soc. Eptl. Biol. 8, 502
- DARLINGTON, W.A., QUASTEL, J.H. (1953) Arch. Biochem.  
Biophys. 43, 194
- DAVENPORT, H.W. (1975) En: A Digest of Digestion. Chicago  
Year Book
- DAVID, H. (1967) Virchows Arch. Pathol. anat. 342, 19-25
- DAVIDSON, J.N., GARRY, R.C., (1940) J. Physiol 97, 509-516
- DAWSON, A.M., Mc MICHEL, H.B. (1968) J. Physiol. (Lond.)  
196, 32P-33P
- DEBNAM, E.S., LEVIN, R.J. (1971) J. Physiol. 218, 38P-39P
- DEBNAM, E.S., LEVIN, R.J. (1973) J. Physiol. 231, 21P-23P
- DEBNAM, E.S. (1978) J. Physiol. 281, 38P
- DEBNAM, E.S. (1979) J. Physiol. 296, 52P
- DEMIS, D.J. ROTHSTEIN, A., MEIER, R. (1954) Arch. Biochem.  
Biophys. 48, 55
- DEUEL, H.J. Jr., HALLMAN, L.F., MURRAY, S., SAMUELS, L.T.  
(1937) J. Biol. Chem. 119, 607
- DEYRUP, I.J. (1963) Fed. Proc. 22, 332
- DIAMON, J.M. (1962) J. Physiol (Lond.) 161, 474-502

- DIAMOND, J.M. (1964) J. Gen. Physiol. 48, 1-4
- DIAMOND, J.M. (1966) J. Physiol. 183, 83-100
- DIETSCHY, J.M. (1964) Gastroenterol. 47, 395-408
- DIETSCHY, J.M., SALLEE, V.L., WILSON, F.A. (1971)  
Gastroenterol. 61, 932-934
- DOELL, R.G., ROSEN, G., KRETCHMER, N. (1965) Proc. Natl.  
Acad. Sci. U.S. 54, 1268-1273
- DONHOFFER, S.Z. (1935) Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp.  
Pathol. Pharmacol. 177, 689-692
- DRABKIN, D.L. (1948) Proc. Am. Diabetes Assoc. 8, 171
- DUGAS, M.C., CRANE, R.K. (1975) Biochim. Biophys. Acta  
401, 486-501
- ECKNAUER, R., FEYERARABEND, G., RAFFLER, H. (1978)  
J. Brit. Soc. Gastroenterol. 19, 707-714
- ESPOSITO, G., FAELL, A., CAPRARO, V. (1973) Pflugers  
Arch. 340, 335-348
- EVANS, E.M., WRIGGLESWORTH, J.M., BURDETT, K. POVER, W.F.R.  
(1971) J. Cell. Biol. 51, 452-464
- FARQUHAR, M.G., PALADE, G.E. (1963) J. Cell. Biol. 17, 375
- FAUST, R.G. (1962) Biochim. Biophys. Acta 60, 604
- FAWCETT, D.W. (1962) Circulation 26, 1105-1125
- FEEL, B.F., SMITH, K.A., CAMPBELL, R.M. (1963) J. Pathol.  
Bacterol. 85, 179-188

- FISHER, R.B., PARSONS, D.S. (1950) J. Anat. (Lond.) 84, 272-282
- FOLKLOW, B., LEWIS, D.H., LUNDGREN, O., MELLANDER, S., WALLENTIN, I. (1964) Acta Physiol. Scand. 45, 460
- FORDTRAN, J.S., RECTOR, F.C. Jr., EWTON, M.F., SOFER, N., KINNEY, J. (1965) J. Clin. Invest. 44, 1935-1944
- FORDTRAN, J.S., DIETSCHY, J.M. (1966) Gastroenterol. 50, 263-285
- FORDTRAN, J.S., RECTOR, F.C., CARTER, N.W. (1968) J. Clin. Invest. 47, 884-900
- FORRESTER, J.M. (1972) J. Anatomy 111, 283-291
- FORSTER, H., KAISER, W., MEHNERT, H. (1965) Klin. Wochenschr, 43, 839-844
- FORSTER, H., HOOS, I. (1972) Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 353, 88
- FORSTER, H. (1973) FEBS Letters 31 (1), 75-79
- FORSTNER, G.G., WHERRETT, J.R. (1973) Biochim. Biophys. Acta 306, 446-459
- FREUND, T., BRONNER, F. (1975) Science 190, 1300-1302
- FRIZZELL, R.A., SCHULZ, S.G. (1970) J. Gen. Physiol. 56, 462-490
- FROMTER, E., DIAMOND, J.M. (1972) Nature (New Biol.) 235, 9-13

- FULLERTON, P.M., PARSONS, D.S. (1956) Quart. J. Exptl. Physiol. 41, 387-397
- FURUYA, S., YUGARI, Y. (1974) Biochim. Biophys. Acta 343, 558-564
- FURUYA, S., SITREN, H.S., ZEIGEN, S., OFFORD, C.E. STEVENSON, N.R. (1979) J. Nutr. 109, 1962-1973
- GAGINELLA, T.S., HADDAD, A.C., GO, V.L.W., PHILIPS, S.F. (1977) J. Pharmacol. Exp. Ther. 201, 259-266
- GALL, D.G., BUTLER, D.G., TEPPERMAN, F., HAMILTON, J.R. (1974) Biochim. Biophys. Acta 339, 291-302
- GARNIER, L. GOUDARD, L. (1961) J. Physiol. (paris), 53, 344-345
- GAUTHIER, A., LARBIER, M., BLUM, J.C. (1979) Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 19 (3B), 703-707
- GAZA, I. (1980) Tesina de licenciatura. Barcelona
- GECK, P., HEINZ, E. (1976) Biochim. Biophys. Acta 443, 49-63
- GLICKMAN, R.M., BOUHOURS, J.F. (1976) Biochim. Biophys. Acta. 424, 17-25
- GOLDACRE, R.J. (1952) Intern. Rev. Cytol. 1, 135
- GOLDNER, A.M., SCHULTZ, S.G., CURRAN, P.F. (1964) J. Gen. Physiol. 53, 362-383
- GOMORI, G. (1941) J. Cellular Comp. Physiol. 17, 71

- GORDON, H.A., BUCKNER-KARDOSS, E. (1961) Am. J. Physiol. 201, 175
- GOUS, R.M., LINDNER, W.A., STIELAU, W.J., DREOSTI, I.E. (1977) Poultry Sci. 56, 793-796
- GRATECOS, D., KNIBIEHLER, M., BENOIT, V., SEMERIVA, M. (1978) Biochim. Biophys. Acta 512, 508-524
- GROEN, J. (1937) J. Clin. Invest. 16, 245
- GUERRERO, M.C. (1980) Tesina de licenciatura. Barcelona
- HAFFEN, K., LEWIN, M.J.M., ROBBERECH, P. (1979) Gastroenterol. Clin. Biol. 3, 267-282
- HALLIDAY, R. (1959) J. Endocrin. 18, 56-66
- HAM, A.W. (1977) Tratado de Histología pp 619-631. Ed. Interamericana
- HANNINEN, O. (1968) Scand. J. Gastroenterol. 3 (1), 110-111
- HARCASTLE, P.T., SANDFORD, P.A. (1978) Br. J. Pharmacol. 62, 463P
- HARRER, D.S., STERN, B.K., REYLLY, R.W. (1964) Nature 203, 319-320
- HARRIL, I., CERVONE, N. (1977) Am. J. Clin. Nutr. 30, 431
- HARRISON, D.D., WEBSTER, H.L. (1969) Exptl. Cell. Res. 55, 257-260

- HAUBRICH, W.S., WATSON, J.H.L., O'DRISCOLL, W., VALENTINE, V. (1959) Henry Ford Hosp. Med. Bull. 7, 113-122
- HELLER, H., SMIRK, F.M. (1932) J. Physiol (Lond.) 76, 1-22
- HENDLEY, F., SMYTH, D.H. (1957) J. Physiol. 139, 27
- HINDLE, W., CODE, C.F. (1962) Am. J. Physiol 203, 215
- HOFFMAN, A.G.D., KUKSIS, A. (1977) Gastroenterol. 72 ,  
(abstract).
- HOLDSWORTH, C.D., DAWSON, A. M. (1964) Clin. Sci. 27,  
371-379
- HOLDSWORTH, C.D., WILSON, H. (1967) Am. J. Physiol. 212,  
(2), 233-240
- HOLMAN, G.D., NAFTALIN, R.J. (1975) Biochim. Biophys.  
Acta 382, 230-245
- HOLMAN, G.D., NAFTALIN, R.J. (1976) Biochim. Biophys.  
Acta 433, 597-614
- HOLMAN, G.D., NAFTALIN, R.J. (1979) J. Physiol 290, 351-366
- HOLLANDER, D., MURALIDHARA, K.S. (1977) Am. J. Physiol.  
232, E471-E474
- HOLLANDER, D., RIM, E., MURALIDHARA, K.S. (1977) Am. J.  
Physiol. 232, E69-E74
- HOLLANDER, D. (1979) Exp. Geront. 14, 301-305
- HONNERGER, P., SEMENZA, G. (1973) Biochim. Biophys. Acta  
318, 390-410

- HOPFER, U., SIGRIST-NELSON, K., MURER, H. (1975) Ann. N.Y. Acad. Sci. 264, 414-427
- HOPFER, U., SIGRIST-NELSON, K., AMMANN, E., MURER, H. (1976) J. Cell. Physiol. 89, 4, 804-810
- HORVATH, I., WIX, G. (1950) Acta Physiol. hung. 2, 435
- HUANG, K.G. (1965) Life Sci. 1201-1206
- HUBEL, K.A. (1967) Am. J. Physiol 213, 1409
- HUBEL, K.A. (1969) Am. J. Physiol. 217, 40
- ILUNDAIN, A. LLUCH, M., PONZ, F. (1979) Rev. Esp. Fisiol. 35 (3), 359-366
- JACOBS, F.A., LUPER, M. (1957) J. Appl. Physiol 11, 136-138
- JACOBS, F.A., LANG, A.H. (1965) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 118, 772-776
- JERVIS, L., JOHNSON, F.R., SHEFF, M.F., SMYTH, D.H. (1956) J. Physiol 134, 675-688
- JODAL, M., SVANVIK, J., LUNDGREN, O. (1977) Acta Physiol. Scand. 100, 412-423
- JOHNSON, I.T., BRONK, J.R. (1980) J. Cell. Sci. 45, 199-210.
- JOHNSTON, J.M. (1958) Proc. Soc. Eptl. Biol. Med. 98, 836-838
- KERSHAW, T.G., NEAME, K.D. , WISEMAN, G. (1960) J. Physiol. (Lond.) 152 , 182

- KESSLER, M., SEMENZA, G. (1979) *Febs. Letters* 108 (1) 205-208
- KIMMICH, G.A. (1970) *Biochem.* 9 (19), 3669-3677
- KIMMICH, G.A., RANDLES, J. (1973) *J. Membr. Biol.* 12, 47-68
- KIMMICH, G.A., RANDLES, J. (1976a) *J. Membr. Biol.* 23, 57-76
- KIMMICH, G.A., RANDLES, J. (1976b) *J. Membr. Biol.* 27, 363-379
- KIMMICH, G.A., CARTER-SU, C., RANDLES, J. (1977) *Am. J. Physiol.* 2, E357-362
- KIMMICH, G.A., RANDLES, J. (1978) *Membr. Biochem. J.* 1, 221-237
- KIMMICH, G.A., RANDLES, J. (1979) *Am. J. Physiol.* 237, C56-C63
- KIMMICH, G.A., RANDLES, J. (1980) *Biochim. Biophys. Acta* 596, 439-444
- KJERULF-JENSEN, K. (1942) *Acta Physiol. Scand.* 4, 225
- KLINGHOFFER, K.A. (1938) *J. Biol. Chem.* 126, 201-205
- KNOEBEL, L.K. (1972) *Am. J. Physiol.* 223, 255-261
- KOIZUMI, T., ARITA, T., KAKEMI, K. (1964) *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 12, 421-427

- KOSTIAL, K., KELLO, D., JUGO, S., RABAR, I., MALJKOVIC, T.  
(1978) Environ. Health Perspect. 25, 81-86
- LARRALDE, J. (1947) Rev. Esp. Fisiol. 3, 31
- LARRALDE, J., BELLO, J., FERNANDEZ-OTERO, P. (1962)  
Rev. Esp. Fisiol. 18, 127-137
- LASTZ, L. (1935) Biochem. 2, 276, 40-44
- LAUTERBACH, F. (1977) Naunn-Schm. Arch. Pharmacol. 297,  
201-212
- LEBLOND, C.P., MEISSIER, B. (1958) Anat. Rec. 132, 247
- LEE, J.S. (1973) Am. J. Physiol. 224, 1338-1344
- LEESE, H. (1974) Nature 251, (5475), 512-513
- LEISSRING, J.C., ANDERSON, J.W., SMITH, D.W. (1962) Am.  
J. Dis. Child. 103, 160-165
- LERNER, J., BURRILL, P.H., SATTELMAYER, P.A. , JANICKI, C.F.  
(1976) Comp. Biochem. Physiol. 54A, 109-111
- LEVILLE, G.A., AKINBAMI, T.K., IKEDIOSI, C.O. (1970)  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 135 (2), 483-486
- LEVIN, R.J., SMYTH, D.H. (1963) J. Physiol (Lond.) 169, 175
- LEVIN, R.J., NEWAY, H., SMYTH, D.H. (1965) J. Physiol.  
(Lond.) 177, 58
- LEVIN, R.J. (1966) Gut 7, 250
- LEWIS, L.D., FORDTRAN, J.S. (1975) Gastroenterol. 68,  
1509-1516

- LOEHRY, C.A., AXON, A.T.R., HILTON, P.J., HIDER, R.C.,  
CREAMER, B. (1970) Gut 11, 466-470
- LOEHRY, C.A., KINGHAM, J., BAKER, J. (1973) Gut 14,  
683-688
- LOESCHKE, K., HARE, D., CSAKY, T.Z. (1971) Pflugers Arch.  
Eur. J. Physiol. 328, 1-20
- LONG, C.L., GEIGER, J.W., KINNEY, J.M. (1967) Metabolism.  
16, 413-418
- LUCKE, H., BERNER, W., MENGE, H., MURER, H. (1978)   
Pflugers Arch. Eur. J. Physiol. 373, 243-248
- LUKIE, B.E., WESTERGAARD, H., DIETSCHY, J.M. (1974)  
Gastroenterol. 67, 652-661
- LUNDSGAARD, E. (1933) Biochem. 2. 264, 209-220
- LUNDSGAARD, E. (1935) Skand. Arch. Physiol 265, 33-45
- LLUCH, M., PONZ, F. (1963) Rev. Esp. Fisiol. 19, 187-191
- MANCHEN, T.E., ERLIJ, D., WOODING, F.B.P. (1972) J. Cell.  
Biol. 54, 302-313
- MACKAY, E.M., CLARK, W.G. (1943) Am. J. Physiol. 135,  
185-192
- MARRAZI, R. (1940) Am. J. Physiol. 131, 36
- MATTHEWS, J., SMYTH, D.H. (1960) J. Physiol (Lond.)  
154, 63P-64P

- MILLER, D., CRANE, R.K. (1961) Ann. Biochem. 2, 284-286
- MILLER, D., CRANE, R.K. (1961) Biochim. Biophys. Acta 52, 281
- MILLER, D.L., HAMBURGER, S.A., SCHEDL, H.P. (1979) Am. J. Physiol 237 (4), E389-E396
- MILLER, D.S., SHEHATA, A.T., LERNER, J. (1980) J. Pharmacol. Exp. Ther. 214, 101-105
- MIRCHEFF, A.K., WRIGHT, E.M. (1976) J. Membr. Biol. 28, 309-333
- MIRCHEFF, A.K., SACHS, G., HANNA, S.D., LABINER, C.S., RABON, E., DOUGLAS, A.P., WALLING, M.W., WRIGHT, E.M. (1979) J. Membr. Biol. 50, 343-363
- MIRKOVITCH, V., MENGE, H., ROBINSON, J.W.L. (1974) Experientia, 30, 8, 912-913
- MITCHELL, M.A., LEVIN, R.J. (1981) Experientia 37, 265-266
- MITJAVILA, M.T., MITJAVILA, S., DERACHE, R. (1972) Biol. Gastroenterol (Paris) 5, 273-280
- MODIGLIANI, R., BERNIER, J.J. (1971) Gut 12, 184-193
- MONOD, J.m WYMAN, J., CHANGEUX, J-P (1965) J. Mol. Biol. 12, 88
- MORENO, J.H. (1974) Nature (Lond.) 251, 150
- MORENO, J.H. (1975) J. Gen. Physiol. 66, 97-115

- MORETO, M., GOÑALONS, E., MYLONAKIS, N., GIRALDEZ, A., TORRALBA, A. (1977) J. Pharm. Pharmacol. 29, 446
- MORRISON, J.L., SHAY, H., RABDIN, I.S., CAHOON, R. (1939) Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 41, 131
- MUNCK, B.G., SCHULTZ, S.G. (1974) J. Membr. Biol. 16, 163-174.
- MUNCK, B.G., RASMUSSEN, S.N. (1977) J. Physiol. (Lond.) 271, 473-488
- MURAKAMI, E., SAITO, M., SUDA, M. (1977) Experientia 33, 1469-1470
- MURER, H., HOPFER, U. (1974) Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 71, 484-488
- MURER, H., AMMAN, E., BIBER, J., HOPFER, U. (1976) Biochim. Biophys. Acta 433, 509-519
- NAFTALIN, R.J.CURRAN, P.F., (1974) J. Membr. Biol. 16, 257-278
- NAFTALIN, R.J. (1974) Biochim. Biophys. Acta 373 (3), 453-470
- NAFTALIN, R.J., SIMMONS, N.L. (1979) J. Physiol. 290, 331-350
- NALIN, D.R., ALLY, K., HARE, R., HARE, K. (1972) J. Infect. Dis. 125, 528-532
- NELSON, N. (1944) J. Biol. Chem. 153, 375-380
- NELLANS, H.N., FRIZELL, R.A., SCHULTZ, S.G. (1973) Am. J. Physiol. 225, 467-475.

- NEWEY, H., SMYTH, D.H. (1964) Nature 202, 400
- OLSEN, W.A., INGELFINGER, F.J. (1968) J. Clin. Invest. 47, 1133-1142
- ORTIZ, M., LLUCH, M., PONZ, F. (1979) Rev. Esp. Fisiol. 35, 367-374
- ORTIZ, M., LLUCH, M., PONZ, F. (1979) Rev. Esp. Fisiol. 35, 239-242
- PALAY, S.L., KARLIN, L.J. (1959) J. Biophys. Biochim. Cytol. 5, 363-372
- PALAY, S.L., KARLIN, L.J. (1959a) J. Biophys. Biochem. Cytol. 5, 373-384
- PARSONS, D.S. (1956) Q.J. Exp. Physiol. Cong. Med. Sci. 41, 410
- PARSONS, B.J., SMYTH, D.H., TAYLOR, C.B. (1958) J. Physiol. 144, 387-402
- PARSONS, D.S., PATERSON, C.R. (1965) Quart. J. Exptl. Physiol. 50, 220-231
- PAULS, F., DRURY, D.R. (1942) Am. J. Physiol. 137, 242-245
- PENZES, L. (1974a) Exp. Gerontol. 9 (5-6), 245-252
- PENZES, L. BOROSS, M. (1974b) Exp. Gerontol. 9 (5-6) 253-258
- PENZES, L. (1974c) Exp. Gerontol. 9 (5-6), 259-262

- PENZES, L., SKALA, L. (1977) J. Anat. 124 (1), 217-222
- PENZES, L., BOROSS, M. (1978) Akt. Geront. 8, 101-107
- PENZES, L. (1980) Acta Medica Academiae Sci. Hungar. 37 (2), 203-209
- PERHEENTUPA, J. , HARRISON, H.C., HARRISON, H.E. (1972) Biochim. Biophys. Acta 255, 858-872
- PEMEZEL, N.C., WEBLING, D.A. (1971) J. Anatomy 108, 295-296
- PERRIS, A.D. (1966) Can. J. Biochem. 44, 687-693
- PETER, W. (1978) Med. Vet. Diss. Univ. Munchen
- PFEIFFER, C.J. (1968) Postgraduate Medicine 43 (4), 215-221
- PHAN, H.H., ABDELLAH, R. (1980) Reprod. Nutr. Develop. 20 (4B), 1361-1368
- PHILLIPS, S.F. (1972) Gastroenterol. 63, 495-518
- PINKETT, M.O., SITREN, H.S., BARGE, R., STEVENSON, N.R. (1979) Int. J. Chronobiol. 6, 13-22
- POINTNER, H., FLEGEL, U. (1973) Experientia 29, 441-442
- PONZ, F., LARRALDE, J. (1950) Rev. Esp. Fisiol. 6, 255-269
- PONZ, F., LARRALDE, J. (1951) Nature 168, 912-914
- PONZ, F., LLUCH, M. (1955) Rev. Esp. Fisiol. 11, 267
- PONZ, F., LLUCH, M. (1964) Rev.Esp. Fisiol 20 (4), 179-184

- PONZ, F., ILUNDAIN, A., LLUCH, M. (1979) Rev. Esp. Fisiol. 35, 97-104
- PORTEUS, J.W., PRITCHARD, P. (1972) Proc. Biol. Soc. 127, 61P
- POWELL, D.W., MALAWER, S.J. (1968) Am. J. Physiol. 215, 49-55
- PRIETO, J.C., LABURTHE, M., ROSSELIN, G. (1979) Eur. J. Biochem. 96, 229-237
- PRIOR, R.L., TOPPING, D.C., VIZEK, W.J. (1974) Biochem. 13, 178-183
- PRITCHARD, P.J., PORTEUS, J.W. (1977) Biochem. J. (G.B.) 164, 1-14
- RAHEJA, K.L., TEPPERMAN, J., TEPPERMAN, H.M. (1977) Comp. Biochem. Physiol. 58A, 245-248
- RANBAUD, J.C., THIRY, C., BERNIER, J.J. (1973) Acta Gastroenterol. Belg. 36, 9-29
- RANGLES, J., KIMMICH, G.A. (1978) J. Physiol 3, C64-C72
- RAUL, F., SIMON, P., KEDINGER, M., HAFFEN, K. (1977) Cell. Tissue Res. 176, 167-178
- RAUL, F., KEDINGER, M., SIMON, P., GRENIER, J.F., HAFFEN, K. (1978) Biol. Cell. 33, 163-168
- READ, N.W., LEVIN, R.J., HOLDSWORTH, C.D. (1976) Gut 17, 444-449

- READ, N.W., BABER, D.C., LEVIN, R.J., HOLDSWORTH, C.D.  
(1977) Gut 18, 865-876
- REID, E.W. (1900) Phil. Trans. Roy. Soc. London Ser. B.  
102, 211-297
- REISER, S., FITZGERALD, J.F. CHRISTIANSEN, P.A. (1970)  
Biochim. Biophys. Acta 203, 351-353
- REY, F., DRILLET, F., SCHMITZ, J., REY, J. (1974)  
Gastroenterol. 66, 79-85
- RIDER, A.K., SCHEDL, H.P., NOKES, G., SHINING, S. (1967)  
J. Gen. Physiol. 50, 1171-1182
- RIKLIS, E., QUASTEL, J.H. (1958) Can. J. Biochem. Physiol.  
36, 347-362
- RINALDO, J.E., JENNINGS, B.L., FRIZZELL, R.A., SCHULTZ,  
S.G. (1975) Am. J. Physiol. 228, 854-860
- RITTER, U. (1957) Gastroenterologia (Basel) 88, 133-171
- ROBINSON, J.W.L., ANTONIOLI, J.A., MIRKOVITCH, J. (1966)  
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 255, 178
- ROBINSON, J.W.L. (1979) J. Physiol 296, 34P
- ROBINSON, J.W.L., ANTONIOLI, J.A. (1980) Gastroenterol.  
Clin. Biol. 4, 78-86
- ROMMEL, K., BOHNER, R. (1972) Arztliche Forschung 10,  
453-457
- ROSE, R.C., SCHULTZ, S.G. (1971) J. Gen. Physiol. 57,  
639-663

- ROSEMBERG, T. (1954) Symp. Soc. Exptl. Biol. 8, 136
- RUANO, M<sup>a</sup> J., LARRALDE, J., LLUCH, M. (1974) Rev. Esp. Fisiol. 30, 283-288
- RYDER, J. B. (1963) Geront. Clin. 5, 30
- SAITO, M. (1972) Biochim. Biophys. Acta 286, 212
- SAITO, M., MURAKAMI, E., NISHIDA, T., FUJISAMA, Y., SUDA, M. (1975) J. Biochem. 78, 475
- SAITO, M., MURAKAMI, E., SUDA, M. (1976) Biochim, Biophys. Acta 421, 177
- SALTZMAN, D.A., RECTOR, F.C., FORDTRAN, J.S. (1972) J. Clin. Invest. 51, 876-885
- SALLE, V.L., DIETSCHY, J.M. (1973) J. Lipid. Res. 14, 475-484
- SAYEED, M.M., BAUE, A.E. (1973) Proc.Soc. Exp. Biol. Med. 142, 580-585
- SCHAEFFER, J.F., PRESTON, R.L., CURRAN, P.F. (1973) J. Gen. Physiol. 62, 131-146
- SCHARRER, E. (1973) Zbl. Vet. Med. A20, 683-691
- SCHARRER, E. (1974) Z. Tierphysiol. Tierernahr. U. Futtermittelk 32, 320-328
- SCHARRER, E. (1975) En: Digestion and metabolism in the ruminant pp 49-59 I.W.Mc. Donald and A.C.I. Warner Eds. Armidale, Australia: The University of New England Publ.

- SCHARRER, E. (1976) Pflugers Arch. 366 (2-3), 147-151
- SCHARRER, E., LIEBICH, H.G., RAAB, W., PROMBERGER, N. (1979) Zbl. Vet. Med. A. 26, 95-105
- SCHIFF, E.R., SMALL, N.C., DIETSCHY, J.M. (1972) J. Clin. Invest. 51, 1351-1362
- SCHULTZ, S.G., ZALUSKY, R. (1964) J. Gen. Physiol. 47, 1043
- SCHULTZ, S.G., ZALUSKY, R. (1965) Nature London 205, 292-294
- SCHULTZ, S.G., CURRAN, P.F. (1970) Physiol. Rev. 50, 637
- SCHULTZ, S.G., FRIZELL, R.A. (1972) Gastroenterol. 63, 161-170
- SCHULTZ, S.G. (1977) Am. J. Physiol. 233 (4) E249-E254
- SEMENZA, G. (1971) En: Transport across the intestine. Ed. W.L. Burland y Samuel, Churchill Livingstone, Edimburgh
- SEMENZA, G. (1975) Inserm 53, 17-26
- SEPULVEDA, F.V., ROBINSON, J.W.L. (1978) J. Physiol. Paris, 74, 569-574
- SHAPIRO, B. (1947) Biochem. J. 41, 151-154
- SHEARMAN, D.J.C., GIRWOOD, R.H., WILLIAMS, A.W., DELAMORE, I.W. (1962) Gut 3. 16-25
- SHEFF, M.F., SMYTH, D.H. (1955) J. Physiol. Lond. 128, 67P
- SIGDESTAD, C.P., BAUMAN, J., LESHER, S.W. (1969) Exp. Cell. Res. 58, 159-162

- SIMMONS, N.L., NAFTALIN, R.J. (1976) *Biochim. Biophys. Acta* 447, 426-450
- SLADEN, G.E., DAWSON, A.M. (1969) *Clin. Sci.* 36, 133-145
- SMYTH, D.H., TAYLOR, C.B. (1955) *J. Physiol.* 130, 11P-12P
- SMYTH, D.H., TAYLOR, C.B. (1957) *J. Physiol.* 136, 632-648
- SOLS, A., PONZ, F. (1946) *Rev. Esp. Fisiol.* 2, 283-384
- SOLS, A., PONZ, F. (1947) *Rev. Esp. Fisiol.* 3, 207-211
- SOMOGY, M. (1945) *J. Biol. Chem.* 160, 61-68
- SPECHT, W. (1977) En: *Intestinal permeation* pp 4-40, Ed. Kramer, M., Lauterbach, F. Excerpta Medica. Amsterdam
- STAEHELIN, L.A., MUKHERJEE, T.M., WYNN, N., WILLIAMS, A. (1969) *Protoplasma*, 67, 165-184
- STAEHELIN, L.A., HULL, B.E. (1978) *Inv. Ciencia* 22, 76-86
- STEIN, W.D., DANIELLI, J.F. (1956) *Discussions Faraday Soc.* 21, 238
- STERN, B.K., JENSE, W.E. (1966) *Nature* 209, 789-790
- STEVENSON, N.R., FERRIGNI, F., PARNICKY, K., DAY, S.E., FIERSTEIN, J.S. (1975) *Biochim. Biophys. Acta* 406, 131-145
- STEVENSON, N.R., FIERSTEIN, J.S. (1976) *Am. J. Physiol.* 230, 731-735
- STEVENSON, N.R., DAY, S.E., SITREN, H.S. (1979) *Int. J. Chronobiol.* 6, 1-12
- STEVENSON, N.R., SITREN, H.S., FURUYA, S. (1980) *Am. J. Physiol.* 238, G203-G207

- STIRLING, C.E. (1972) J. Cell. Biol. 53, 704-714
- STIRLING, C.E. (1975) J. Membr. Biol. 23, 33-56
- SULLIVAN, M.F. (1961) Am. J. Physiol. 201, 1013
- SUND, R.B. (1978) Acta Pharmacol. Toxicol. 42, 117-124
- SWALLOW, J.H., CODE, C.F. (1967) Am. J. Physiol. 212, 717
- SWAMINATHAN, N., EICHHOLLZ, A. (1973) Biochim. Biophys. Acta 298, 724-731
- SYMONS, L.E.A., FAIRBAIRN, D. (1962) Fedn. Proc. Fedn. Socs. Exp. Biol. 21, 913
- THOMSON, A.B.R., DIETSCHY, J.M. (1977) J. Ther. Biol. 64, 277-294
- THOMSON, A.B.R. (1979a) Am. J. Physiol. 236 (6) E685-E691
- THOMSON, A.B.R. (1979b) J. Membr. Biol. 47 (1) 39-57
- THOMSON, A.B.R. (1979c) Am. J. Physiol. 236 (6) E701-E709
- THOMSON, A.B.R. (1980) Am. J. Physiol. 239, G363-G371
- TOWLER, C.M., PUGH-HUMPHREYS, G.P., PORTEUS, J.W. (1978) J. Cell. Sci. 29, 53-75
- TRIER, J.S., RUBIN, C.E. (1965) Gastroenterol. 49, 574
- TURNBERG, L.A., BIEBERDOF, F.A., MORAWSKI, S.G., FORDTRAN, J.S. (1970) J. Clin. Invest. 49, 557-567
- USSING, H.H., ANDERSEN, B. (1955) Abs. 3d. Intern. Cong. Biochem. Brussels, 434
- VAN OS, C.H., SLEGGERS, J.F.G. (1973) Biochim. Biophys. Acta 291, 197-207

- VAN OS, C.H., MIRCHEFF, A.K., WRIGHT, E.M. (1977) J. Cell. Biol. 73, 257-260
- VERZAR, F., Mc. DOUGALL, E.J. (1936) En: Absorption from The intestine. London, Longmans, Green.
- VIDAL-SIVILLA, S., SOLS, A., PONZ, F. (1950) Rev. Esp. Fisiol. 6, 195-205
- VISSCHER, M.B., ROEPKE, R.R., LIFSON, N. (1945) Am. J. Physiol. 144, 457-463
- VOLKHEIMER, G., WENDLANDT, H., WAGEMANN, W., REITZIG, P., SCHNEIDER, D., BOHM, C., BOHM, M., ERAS, B., GRONING, H., HAUPTMANN, G., HILLER, R., LORENZ, H., MANDELKOW, A., STRAUCH, S. (1968a) Pathol. Microbiol. (Basel) 31, 51-58
- VOLKHEIMER, G., SCHULZ, F.H., LEHMANN, H., AURICH, I., HUBNER, M., HALLMAYER, A., MUNCH, H., OPPERMAN, H., STRAUCH, S. (1968b) Med. Exp. (Basel) 18, 103-108
- VOLKHEIMER, G., SCHULZ, F.H., AURICH, I., STRAUCH, S., BEUTHIN, K., WENDLANDT, H. (1968c) Digestion 1, 78-80
- WALLING, M.W., MIRCHEFF, A.K., VAN OS, C.H., WRIGHT, E.M. (1978) Am. J. Physiol. 235, E539-E545
- WEISER, M.M. (1973) J. Biol. Chem. 248, 2542-2548
- WERTHEIMER, E. (1933) Pflugers Arch. Gen. Physiol. 233, 514-528
- WESTEMBRINK, H.G.K. (1936a) Nature London. 138, 203-204
- WESTEMBRINK, H.G.K. (1936b) Arch. Neerl. Physiol. 21, 433

- WESTERGAARD, H., DIEISCHY, J.M. (1974) J. Clin. Invest. 54, 718-732
- WHEELER, H.O. (1963) Am. J. Physiol. 205, 427-438
- WHITE, R.G., WILLIAMS, V.J., MORRIS, J.H. (1971) Brit. J. Nutr. 25, 57-76
- WHITE, J.F., ARMSTRONG, W.Mc. D. (1971) Am. J. Physiol. 221, 194-201
- WIDDAS, W.F. (1954) J. Physiol. 125, 163
- WILBRANDT, W., LENGYEL, L. (1933) Biochem. Ztschr. 204, 267
- WILSON, F.A., DIETSCHY, J.M. (1972a) J. Clin. Invest. 51, 3015-3025
- WILSON, F.A., DIETSCHY, J.M (1972b) Clin. Res. 20, 783
- WILSON, F.A., DIETSCHY, J.M. (1974) Biochim. Biophys. Acta 363, 112-126
- WILSON, R.H., LEWIS, H.B. (1929) J. Biol. Chem. 84, 511-531
- WILSON, T.H., WISEMAN, G. (1954) J. Physiol. London. 123, 116-125
- WILSON, T.H. (1956) J. Appl. Physiol. 9, 137-140
- WILSON, T.H., LANDAU, B.R. (1960) Am. J. Physiol. 198, 99
- WINNE, D. (1971) Z. Gastroenterol. 9, 429-441
- WINNE, D. (1973) Biochim. Biophys. Acta 298, 27-31
- WINNE, D. (1976) Experientia 32 (10), 1278-1279
- WINNE, D. (1977a) En: Intestinal Permeation pp 58-64. vol. 4 Workshop Conference Hoechst (Kramar, M, Lauterbach, F. Eds.) Amsterdam-Oxford. Excerpta Medica.

- WINNE, D. (1977b) Biochim. Biophys. Acta 464, 118-126
- WINNE, D. (1978) Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 304, 175-181
- WINNE, D. (1979) Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol 307 (3), 265-274
- WISEMAN, G. (1956) J. Physiol. 133, 626
- WOOD, H.O. (1944) J. Anat. 78, 103
- WRIGHT, E.M., SMULDERS, A.P., TORMEY, J., Mc. D. (1972) J. Membr. Biol. 7, 198-219
- YOUNOSZAI, M.K. (1974a) J. Pediatrics. 85 (3), 446-448
- YOUNOSZAI, M.K., LYNCH, A. (1974b) J. Nutr. 104, 671-677
- YOUNOSZAI, M.K., LYNCH, A. (1975) Pediat. Res. 9, 130-133
- YOUNOSZAI, M.K. (1979) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 160 (2), 192-195
- YOUNOSZAI, M.K., ROBILLARD, J.E. (1980) Pediat. Res. 14, 839-843
- YOUSEF, I.M., KUKSIS, A. (1972) Lipids 7, 380-386
- ZEMAN, F.J., FRATZKE, M.L. (1977) J. Nutr. 107, 690-699
- ZETTERQVIST, H. (1956) En; The Ultrastructural Organization of the Columnar Absorbing Cells of the Mouse Jejunum. Stockholm: Monograph. Aktiebolaget.