

## INFLUENCIA DE LA HIPOTERMIA SOBRE LA ABSORCION INTESTINAL DE DISTINTAS SUSTANCIAS

LUPIANI, M. J.; ZAMORA, S., y LÓPEZ, M. A.

### INTRODUCCION

Tanto la hipotermia como la hibernación son en la actualidad temas de palpitante interés en la investigación biológica. La hibernación natural es un fenómeno fisiológico controlado, un estado del que el animal puede salir espontáneamente para volver a su funcionalismo normal. Por el contrario, la hipotermia artificial representa una situación en que los procesos fisiológicos de control de la temperatura y el metabolismo están profundamente alterados. Ello lleva consigo cambios en las diferentes funciones vitales, cambios cuya importancia depende de la mayor o menor sensibilidad de los tejidos y los órganos a las bajas temperaturas, así como de la naturaleza misma de cada proceso, y de su dependencia más o menos estrecha del metabolismo energético.

La absorción intestinal de una gran variedad de sustancias ha sido estudiada por numerosos autores tanto "in vitro" como "in vivo" y en diferentes condiciones experimentales sin embargo las repercusiones de la disminución de la temperatura corporal sobre este proceso, son poco conocidas, y la información existente acerca de este punto es escasa.

La mayor parte de los autores coinciden en afirmar que las sustancias que se absorben activamente, sufren una reducción en su absorción bajo el efecto de la hipotermia; EWE (1) no encuentra absorción de calcio en el yeyuno a baja temperatura y HASHIM y CLARK (2), con temperatura de 0° C, observan que la incorporación de calcio a las células de la mucosa intestinal se realiza sólo mediante un proceso pasivo; en cambio a 38° C la incorporación y movimiento del ión tiene lugar por un proceso activo.

En la especie humana se ha observado que la absorción de agua y sodio se reduce cuando desciende la temperatura; así a 17-25° C la reducción es de 32 por 100, y con una temperatura de 5-10° C esta disminución es aún mayor (3). También en el hombre diversos autores (4, 5, 6) encuentran que bajo situación de hipotermia moderada (30-28° C), disminuye el metabolismo de la glucosa y fructosa; además se eleva la concentración de azúcar en sangre, que sigue incrementándose progresivamente con bajas temperaturas, siendo estos cambios similares a los encontrados en una deficiencia insulínica aguda.

Trabajos realizados en el conejo, muestran un descenso en el metabolismo de la glucosa bajo la acción de la hipotermia, aunque el cociente respiratorio indica que alguna glucosa es oxidada (7,8).

KILBURN (9), en la misma especie observa una hiperglucemia durante la hipotermia, la cual puede ser debida a una liberación intrínseca de epinefrina. Es lógico pensar que estos cambios en la utilización metabólica de los azúcares pueden estar estrechamente relacionados con modificaciones en su absorción a través del intestino. Así MUSACCHIA y BARR (10) encuentran marcadas alteraciones de los procesos de absorción, en el hamster, a consecuencia de la exposición al frío; concretamente observan una reducción en el transporte de la glucosa, que atribuyen a mecanismos de adaptación al frío, por cambios enzimáticos provocados por el mismo. Igualmente, en el perro (11), se ha descrito que la absorción de glucosa no sólo disminuye durante la hipotermia, sino que permanece disminuida algún tiempo después.

Por lo que se refiere al transporte de aminoácidos a través del intestino, estos mismos autores (11) encuentran una reducción en la absorción de glicocola a consecuencia de la hipotermia, de forma análoga a lo que ocurre con la glucosa. Por otra parte, en opinión de SALMON y col. (12), la motilidad del tracto gastrointestinal se reduce de manera muy marcada a 34° C, con cese de la actividad a 30° C.

## MATERIAL Y METODO

Se han realizado siete grupos de experimentos de absorción intestinal, en ratas adultas de la cepa Nestlé, de pesos compren-

didados entre 200 y 220 g y de ambos sexos. Cada uno de estos experimentos se divide en dos ensayos, uno a  $37 \pm 1^\circ \text{C}$ , considerado como control, y otro problema a  $24 \pm 1^\circ \text{C}$ , utilizando diez animales en cada ensayo.

A los animales se les retiró la comida pero no el agua 36 horas antes de comenzar los experimentos.

La anestesia se practicó intraperitonealmente, con etil uretano a dosis de 1 g/Kg. Tras la anestesia se practicó laparotomía media, se ligan el conducto biliar y pancreático y se introducen cánulas de polivinilo al comienzo del duodeno y al final del ileon, de forma que tengamos todo el intestino delgado disponible para realizar las perfusiones pertinentes. Los animales así preparados se colocaron en una cámara termorregulada, manteniendo la temperatura corporal a  $37$  y  $24^\circ \text{C}$  según los casos.

Los experimentos se llevaron a cabo conectando la cánula duodenal a un perfusor y la cánula ileal a un matraz de recogida; antes de comenzar el experimento se llevó a cabo un lavado previo del intestino con solución salina isotónica.

A continuación se procedió a introducir las diferentes soluciones a ensayar, con una velocidad de 10 ml por hora, siendo el volumen perfundido de 20 ml. Finalizada la perfusión se lavó el intestino con solución salina isotónica, hasta enrasar el matraz de recogida a 100 ml. La velocidad empleada (0,17 ml/min.) fue tal que no se alteraron sensiblemente los movimientos peristálticos. Estas condiciones de perfusión son las recomendadas por MURILLO y col. (13) para el intestino delgado de rata.

Las soluciones se introdujeron siempre a la temperatura a que se encontraba el animal y todas ellas eran isotónicas. La composición de las soluciones utilizadas era la siguiente:

## TYRODE 1 A (\*)

Empleado en los ensayos de absorción de calcio.

ClNa ... ..	8,0	g
ClK ... ..	0,2	»
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> Na, 2H <sub>2</sub> O ... ..	0,065	»
Cl <sub>2</sub> Mg, 6H <sub>2</sub> O ... ..	0,213	»
Cl <sub>2</sub> Ca ... ..	0,2066	»
Glucosa ... ..	1	»
CO <sub>3</sub> HNa ... ..	1	»
H <sub>2</sub> O C. S. P. ... ..	1	litro

## TYRODE 3 A (\*)

Empleado en los ensayos de absorción de calcio.

ClNa ... ..	7,37	g
ClK ... ..	0,2	»
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> Na, 2H <sub>2</sub> O ... ..	0,065	»
Cl <sub>2</sub> Mg, 6H <sub>2</sub> O ... ..	0,213	»
Cl <sub>2</sub> Ca ... ..	1,02	»
Glucosa ... ..	1	»
CO <sub>3</sub> HNa ... ..	0,6	»
H <sub>2</sub> O C. S. P. ... ..	1	litro

(\*) Todas las soluciones estaban a pH = 7,5.

## TYRODE Ba (\*)

Empleado en los ensayos de absorción de glucosa.

ClNa ... ..	8,099 g
ClK ... ..	0,20 »
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> Na, 2H <sub>2</sub> O ... ..	0,065 »
Cl <sub>2</sub> Mg, 6H <sub>2</sub> O ... ..	0,213 »
Cl <sub>2</sub> Ca ... ..	0,2066 »
Glucosa ... ..	0,498 »
CO <sub>3</sub> HNa ... ..	1 »
H <sub>2</sub> O C. S. P. ... ..	1 litro

## TYRODE Bb (\*)

Se empleó el mismo Tyrode Ba pero añadido de: 0,0473 g de Floricina.

## TYRODE C (\*)

Empleado en los ensayos de absorción de arabinosa.

ClNa ... ..	7,95 g
ClK ... ..	0,20 »
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> Na, 2H <sub>2</sub> O ... ..	0,065 »
Cl <sub>2</sub> Mg, 6H <sub>2</sub> O ... ..	0,213 »
Cl <sub>2</sub> Ca ... ..	0,2066 »
L-Arabinosa ... ..	1 »
CO <sub>3</sub> HNa ... ..	1 »
H <sub>2</sub> O C. S. P. ... ..	1 litro

## TYRODE D (\*)

Empleado en los ensayos de absorción de lisina.

ClNa ... ..	8,0 g
ClK ... ..	0,2 »
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> Na, 2H <sub>2</sub> O ... ..	0,065 »
Cl <sub>2</sub> Mg, 6H <sub>2</sub> O ... ..	0,213 »
Cl <sub>2</sub> Ca ... ..	0,2066 »
Glucosa ... ..	1 »
CO <sub>3</sub> HNa ... ..	1 »
Lisina ... ..	1 »
H <sub>2</sub> O C. S. P. ... ..	1 litro

(\*) Todas las soluciones estaban a pH = 7,5.

El calcio se determinó por espectrofotometría de absorción atómica.

La lisina mediante cromatografía en columna según el método de MOORE y STEIN (14), utilizando un analizador automático de aminoácidos "Unichrom", previa desproteinización y concentración de las muestras.

La determinación de glucosa se realizó por la técnica de la glucosa oxidasa, utilizando ortodiansidina para el desarrollo del color, y leyendo a 440 nm.

La arabinosa se determinó mediante la técnica de SHAFER-SOMOGGI (15), valorando con tiosulfato sódico 0,005 N y utilizando una solución de almidón como indicador.

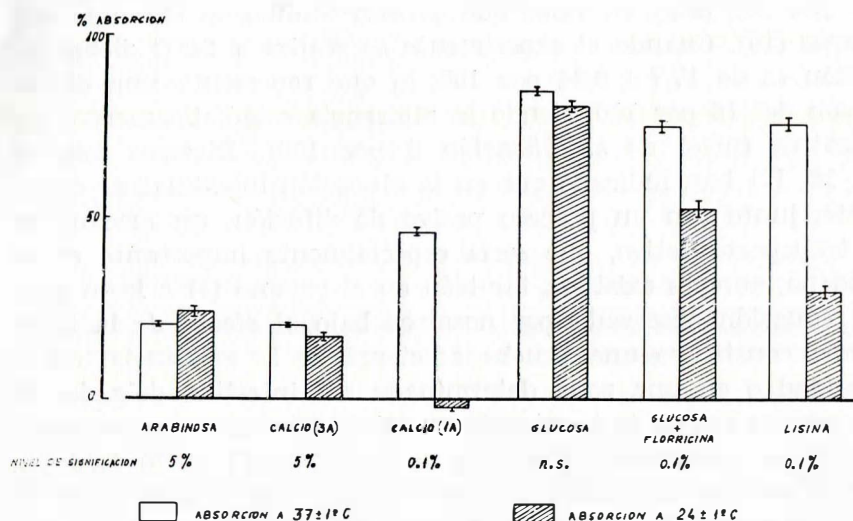
## DISCUSION

En normotermia ( $37^{\circ}\text{C}$ ) la absorción de calcio es de  $21,0 \pm 0,47$  por 100 (Fig. 1), valor que es muy similar al obtenido por CAMPOS (16). Cuando el experimento se realiza a  $24^{\circ}\text{C}$  dicha absorción es de  $17,7 \pm 0,94$  por 100, lo que representa una disminución del 16 por 100, siendo la diferencia estadísticamente significativa (nivel de significación 5 por 100). Diversos autores (17, 18, 19) han indicado que en la absorción intestinal de calcio existe, junto con un proceso pasivo de difusión, un mecanismo de transporte activo, que sería especialmente importante en el duodeno, aunque existiera también en el yeyuno (1) e ileon (20). La reducción observada por nosotros bajo el efecto de la hipotermia constituye una prueba adicional de la existencia, en la totalidad o en una zona determinada del intestino delgado, de un proceso activo de transporte de calcio. Sin embargo la reducción no es demasiado intensa, y la absorción de calcio en hipotermia es aún considerable, lo que sugiere que el mecanismo de difusión pasiva es cuantitativamente importante; al menos, en nuestras condiciones experimentales, en las que la concentración intraluminal de calcio es elevada, del orden del triple de los niveles plasmáticos, por lo que la difusión estaría facilitada. Al emplear soluciones con concentraciones de calcio semejantes a las plasmáticas, la absorción en normotermia ( $37^{\circ}\text{C}$ ) es de  $46,5 \pm 1,3$  por 100 y a ( $24^{\circ}\text{C}$ ) de  $-1,9 \pm 1,91$  (Fig. 1), es decir la hipotermia reduce drásticamente la absorción de calcio, cuando la concentración del mismo a ambos lados de la mucosa son aproximadamente iguales.

Cuando se compara a  $37$  y  $24^{\circ}\text{C}$ , la absorción de L-lisina, que, de acuerdo con la bibliografía (21, 22, 23) se absorbe mayoritariamente por un mecanismo activo, encontramos que dicha absorción se reduce por la hipotermia en un 60 por 100 (Fig. 1). Estos resultados ponen claramente de manifiesto que la hipotermia ejerce una influencia negativa importante sobre el proceso de transporte activo de este aminoácido, y coinciden con resultados previos acerca de la influencia de las bajas temperaturas sobre la absorción de glicocola (11).

La arabinosa no cumple las condiciones estructurales necesarias para el transporte activo de azúcares (24), y por lo tanto

**FIG. 1 ABSORCIÓN INTESTINAL EN NORMOTERMIA E HIPOTERMIA DE DIFERENTES SUSTANCIAS. (VALORES MEDIOS DE 10 ANIMALES)**



se absorbe pasivamente, por simple difusión. Nuestros resultados demuestran que la hipotermia no reduce la absorción de esta sustancia (Fig. 1); de hecho la absorción está ligera pero significativamente aumentada. Cabe suponer que la no existencia de mecanismos activos de transporte es un factor importante para explicar la falta de influencia negativa de la hipotermia en la absorción de este azúcar.

La absorción intestinal de glucosa se reduce muy ligeramente a consecuencia de la hipotermia. Este hecho es sorprendente, ya que en nuestras condiciones experimentales, con una concentración de glucosa en el líquido perfundido inferior a los niveles normales en sangre, el transporte debía ser preferentemente activo, y por tanto era de esperar una fuerte inhibición del mismo por la hipotermia. Una posible explicación sería un descenso de la glucemia, que facilitaría la difusión pasiva; la glucemia medida en sangre periférica (rabo de la rata) es en efecto muy baja (TABLA I; sin embargo, la glucemia central determinada en animal anestesiado en carótida o en porta es muy elevada; esta diferencia podría explicarse sobre la base de una drástica reducción del flujo de sangre periférico, lo que

TABLA I  
 GLUCEMIA CENTRAL Y PERIFERICA (mg/100 ml de sangre) EN RATAS  
 SOMETIDAS A HIPOTERMIA ( $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ )

PERIFERICA	CENTRAL	
	PORTA	CAROTIDA
AYUNAS ... .. 16,1 $\pm$ 2,2	185 $\pm$ 9,1	150 $\pm$ 22,4
PERFUNDIDAS ... .. 14 $\pm$ 1,9	265 $\pm$ 22,5	296 $\pm$ 10,4

daría lugar al consumo de la casi totalidad de la glucosa que llega a dichos tejidos; al mismo tiempo cabe pensar que la producción de glucosa en el hígado (por glucogenolisis y sobre todo por gluconeogénesis) esté exacerbada, y por ello tendría como consecuencia la hiperglucemia central. Se ha descrito un efecto hiperglucemiante del etil-uretano, anestésico utilizado en nuestros ensayos (25), y recientemente se ha atribuido dicho efecto a una activación de la glucogenolisis (26). De todas formas el hecho es que nuestros datos sobre glucemia no explican la escasa reducción de la absorción intestinal de glucosa por efecto de la hipotermia. Dado que el método empleado por nosotros sólo mide desaparición de la luz intestinal, hemos querido comprobar que la absorción de glucosa era real; para ello se ha medido glucemia en porta antes y después de la perfusión del intestino, encontrando un incremento en dicho parámetro, lo que significa que de hecho ha habido absorción neta de glucosa, a pesar de las condiciones de hipotermia. Debemos, por lo tanto, admitir que el animal ha desarrollado unos mecanismos de defensa contra el frío, que incluyen aumento de la glucogenólisis y gluconeogénesis que además, por algún medio que aún no conocemos, consiguen favorecer el transporte de glucosa a través de la pared intestinal. Para explicarlo proponemos dos posibles hipótesis: 1.º) A pesar de que la glucemia central es elevada, el nivel de glucosa en el interior de las células de la mucosa y en la sangre de los capilares de las vellosidades podría ser bajo, lo que llevaría consigo admitir que gran parte de la sangre que llega a la porta no ha atravesado el lecho capilar intestinal, sino que procede de vasos de derivación arteriovenosos. 2.º) En el animal sometido a hipotermia podrían producirse cambios, probablemente de tipo hormonal, que actuaran directamente incrementando el transporte de glucosa a través de la pared in-

testinal. Por el momento carecemos de base para inclinarnos a favor de una u otra hipótesis.

En vista de los resultados anteriormente discutidos, y de difícil interpretación sobre la base de una absorción preferentemente activa de la glucosa, hemos querido comprobar la sensibilidad de nuestro método experimental frente a un inhibidor específico del transporte activo de azúcares, la florricina. En normotermia este glucósido disminuye la absorción de glucosa significativamente (nivel de significación 0,1 por 100).

Cuando simultáneamente aplicamos la hipotermia y la florricina, la absorción de glucosa desciende marcadamente (nivel de significación 0,1 por 100) lo que pone de manifiesto una potenciación entre los efectos de ambos estímulos inhibidores del transporte activo.

#### RESUMEN

Se ha estudiado la influencia de la hipotermia sobre la absorción intestinal de arabinosa, calcio, glucosa y lisina, en ratas anestesiadas, mediante perfusión «in situ» de la totalidad del intestino delgado, y comparando dos lotes de animales con temperaturas rectales de  $37 \pm 1^\circ \text{C}$  y  $24 \pm 1^\circ \text{C}$ .

La absorción de arabinosa no se reduce por la hipotermia, la absorción de calcio a  $24 \pm 1^\circ \text{C}$  se hace nula cuando dicho catión se encuentra en la luz del intestino a concentración igual que en el plasma, y disminuye significativamente cuando la concentración luminal es triple de la plasmática. En nuestras condiciones experimentales la hipotermia reduce sólo ligeramente la absorción intestinal de glucosa. El transporte de L-lisina se inhibe marcadamente por efecto de las bajas temperaturas.

#### RESUME

On a étudié l'influence de l'hypothermie sur l'absorption intestinale de l'arabinose, le calcium, la glucose et la lisine chez le rat anesthésié, par perfusion «in situ» de tout l'intestin grêle, en comparant deux lots d'animales avec températures rectales de  $37 \pm 1^\circ \text{C}$  et  $24 \pm 1^\circ \text{C}$ .

L'absorption d'arabinose n'est pas réduite par l'hypothermie; l'absorption de calcium à  $24 \pm 1^\circ \text{C}$  se fait nulle lorsque il se trouve dans la lumière intestinale à la même concentration que dans le plasma, et diminue significativement lorsque la concentration luminale est trois fois plus grande que la plasmatique. Dans nos conditions expérimentales l'hypothermie réduit seulement de façon légère l'absorption intestinale de glucose. Le transport de L-lisine est inhibé marquément par l'effet des températures basses.



## SUMMARY

The influence of hypothermia on arabinose, calcium, glucose and lysine intestinal absorption was studied in anesthetized rats by means of «in situ» whole small bowell perfusion; two lots of animals with rectal temperatures of  $37 \pm 1^\circ \text{C}$  and  $24 \pm 1^\circ \text{C}$  were compared.

Arabinose absorption was not reduced by hypothermia; calcium absorption at  $24 \pm 1^\circ \text{C}$  fall to zéro when it is in intestinal lumen at the same concentration than in plasma, and was significantly reduced when luminal concentration is three times bigger than plasmatic one. In our experimental conditions hypothermia reduced only slightly glucose intestinal absorption. L-Lysine transport was markedly inhibited by low temperatures.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) EWE, K.: Arch. Pharmacol., 272, 352, 1972.
- (2) HASHIM, G., y CLARK, J.: Biochem. J., 112, 275, 1969.
- (3) SMYTH, D. H., y TAYLOR, C. B.: J. Physiol., 136, 632, 1957.
- (4) BLAIR, E. A.: Surgery, 58, 607, 1965.
- (5) HENNEMAN, G. H.; BUNKER, J. F., y BREWSTER, W. R. (jr.): J. Appl. Physiol., 12, 164, 1958.
- (6) SYMBAS, P. N.; BYRD, B. F. (jr.); JOHNSON, J. G.; YOUNGER, R., y FOSTER, J. N.: Am. Surg., 154, 509, 1961.
- (7) BECKFORD, A. F., y MOTTRAM, R. F.: Clin. Sci., 19, 345, 1960.
- (8) ZAKOLSKI, W. J.; BUTTERFIELD, W. J. H., y MAHLER, R. F.: Guy's Hosp. Rep., 118, 255, 1969.
- (9) KILBRUN, K. H.: Am. J. Physiol., 199, 955, 1960.
- (10) MUSACCHIA, X. J., BARR, R. E.: Fed. Proc., 28, 969, 1969.
- (11) FAITELBERG, R. O., y BASHHEW, V. D.: Fiziol ZH, 16, 281, 1970.
- (12) SALMON, P. A.; GRIFFEN, W. O.; JENSON, C. B., y WANGENSTEEN, O. H.: Surgery, 46, 873, 1959.
- (13) MURILLO, A.; CAMPOS, M. S., y VARELA, G.: Rev. Esp. Fisiol., 28, 115, 1972.
- (14) MOORE, S., y STEIN, W. H.: J. Biol. Chem., 211, 293, 1954.
- (15) SHAFFER-SOMOGGI: Miero Method official final action». Tomado de: Method of Analisis ADAC, 11.ª ed., 1970, pág. 536.
- (16) CAMPOS, M. S.: Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1973.
- (17) PAPWORTH, D. G., y PATRICK, G.: J. Physiol., 210, 999, 1970.
- (18) SCHACHTER, D., y ROSEN, S. M.: Am. J. Physio., 196, 357, 1959.
- (19) ZORNITZER, A. E., y BRONNER, F.: Am. J. Physiol., 220, 1261, 1971.
- (20) BAILLIEN, M., y SCHOFFENIELS, E.: Biochim. Biophys. Acta, 53, 521, 1961.
- (21) EICHELTER, P., y SCHENK, W. G.: Arch. Surg., 96, 883, 1968.
- (22) GIBSON, Q. H., y WISEMAN, G. W.: Biochem. J., 48, 426, 1951.
- (23) WISEMAN, G.: J. Physiol., 114, 7, 1951.
- (24) WILSON, T. H.: Am. J. Physiol., 198, 99, 1960.
- (25) HEPBURN, D.; MAUGHAN, R. J., y WILLIAMS, C.: J. Physiol., 276, 59, 1978.
- (26) REINERT, H.: Nature, 28, 889, 1964.