

Effets des débits de perfusion sur l'absorption intestinale des glucides

par H. H. PHAN, R. ABDELLAH

Laboratoire de Physiologie Métabolique et Nutrition, Université de Paris VI,
9, quai Saint-Bernard, 75230 Paris cedex 05

Summary. *Effects of perfusion flow rates on the intestinal absorption of carbohydrates.*

The effects of five perfusion flow rates (4,5, 9, 12, 30 and 60 ml/h) on the intestinal absorption of glucose, fructose and sucrose were studied in the rat with a « temporary » Thiry-Vella loop (jejunum = 20 cm).

Sucrose hydrolysis and intestinal transport of actively and passively absorbed solutes were markedly affected when the flow rates rose to a value higher than the limiting rate of 12 ml/h.

With a flow rate up to 60 ml/h, glucose and fructose were absorbed at the same rate, but this was not due to thinning of the unstirred water layer. Sucrose hydrolysis was likewise completely inhibited. This result cannot be attributed to a product inhibition because of the absence of hexoses in the exit perfusate.

These observations had important implications in the comparison of the intestinal absorption of many nutriments to evaluate the optimal perfusion rate corresponding to intestinal function integrity.

Introduction.

L'étude *in vivo* de l'absorption intestinale par perfusion d'un segment d'intestin de type Thiry-Vella est une méthode qui présente l'avantage de pouvoir assurer un renouvellement en continu du milieu intraluminal, et de favoriser ainsi la réalisation d'un interface perfusate-cellules absorbantes ayant une composition proche de celle du perfusate initial. L'intérêt de ce phénomène est manifeste lorsqu'il s'agit d'étudier *in vivo* l'activité des enzymes digestives de la bordure en brosse au cours de la digestion des aliments complexes.

Or, peu de travaux ont étudié les limites du choix d'un débit optimal de perfusion. Chez le rat, les débits utilisés sont très variables selon les auteurs (Esposito, Faelli et Capraro, 1973 ; Lee, 1973 ; Bronk et Ingham, 1979). Aussi nous a-t-il paru intéressant d'examiner l'effet éventuel des débits de perfusion sur la vitesse d'absorption de quelques glucides majeurs notamment le glucose, le fructose et le saccharose.

L'utilisation digestive du saccharose implique à la fois l'intervention de la sac-

charase, une enzyme supraluminale douée de propriété de transporteur du glucose (Malathi *et al.*, 1973), et celle des mécanismes d'absorption propres au glucose et au fructose. De ce fait, les investigations par perfusion intestinale de ces glucides recouvrent deux séquences complémentaires et essentielles de la digestion des aliments glucidiques. Elles sont donc susceptibles d'apporter des informations plus complètes sur le fonctionnement de l'intestin pour un débit de perfusion donné.

Matériel et méthodes.

Les animaux utilisés sont des rats Wistar mâles de 250 à 300 g nourris depuis une semaine au régime commercial UAR. Après une diète hydrique de 16 h, ils subissent une anesthésie au nembutal. Puis, on réalise, chez ces animaux, une anse de Thiry-Vella « temporaire » immédiatement utilisable pour une perfusion unique de 4 h selon la technique habituelle (Phan, 1971). Un segment jéjunal de 20 cm de longueur est ainsi isolé à partir de 2 cm du ligament de Treitz et laissé *in situ* dans la cavité abdominale. Ses extrémités communiquent avec l'extérieur à l'aide de deux canules adaptables aux cathéters de travail. La perfusion est pratiquée en circuit ouvert au moyen d'une pompe à vitesse réglable (type B. Braun, West Germany). 5 débits horaires différents 4,5, 9, 12, 30 et 60 ml ont été utilisés pour l'étude de l'absorption intestinale des glucides.

Le glucose, le fructose ou le saccharose est perfusé individuellement sous forme de solution aqueuse de concentrations respectives 222 mM, 222 mM et 117 mM (4 g/100 ml). Etant donné la composition complexe et variée du chyle intestinal, la concentration constante du Na^+ intracellulaire au cours de l'absorption *in vivo* du glucose et du sodium (Esposito, Faelli et Capraro, 1973) et l'effet tampon à pH 6,2 de la muqueuse jéjunale (Phan, 1971), nous avons jugé peu indispensable l'utilisation des solutions tamponnées isotoniques dans les expériences *in vivo* de perfusion intestinale avec des glucides. En effet, au cours des perfusions de l'anse jéjunale avec un débit de 4,5 ml/h les concentrations de sucres utilisées ont permis entre autres concentrations d'observer, chez le rat, l'absorption maximale de ces glucides (Phan, 1971 ; Assami, 1974 ; Phan et Le Van, 1976), en dépit de l'absence du Na^+ dans le perfusé. Ce cation devrait être suffisamment fourni par du Na^+ endogène d'origine sanguine.

A la sortie de l'anse, le perfusé est recueilli en présence de fluorure de sodium dans des tubes gradués maintenus à 4 °C par de la glace pilée. Ces tubes sont changés soit toutes les heures pour les débits 4,5 et 9 ml/h, soit tous les quarts d'heure pour les autres débits.

Le glucose, le fructose et le saccharose sont dosés par des techniques classiques appropriées (Huggett et Nixon, 1957 ; Klotzch et Bergmeyer, 1965 ; Dahlqvist et Borgström, 1961). L'absorption du glucose et du fructose libres est estimée par différence entre les quantités de sucre perfusées et celles recueillies après chaque heure de perfusion. L'absorption du glucose et du fructose provenant de l'hydrolyse du saccharose est représentée par la différence entre les quantités du glucose et du fructose présentes dans le perfusé sortant, et celles des mêmes hexoses calculées à partir de la quantité du saccharose disparue après chaque heure de perfusion.

Résultats.

Les effets des débits de perfusion sur l'absorption intestinale sont analysés en fonction du temps de perfusion, puis comparés respectivement après chaque heure de perfusion aux résultats obtenus avec le débit 4,5 ml/h. Celui-ci est considéré comme débit de référence.

1) *Perfusions intestinales du glucose* (fig. 1). — L'examen des histogrammes de la figure 1 permet de constater que l'absorption intestinale du glucose perfusé au débit

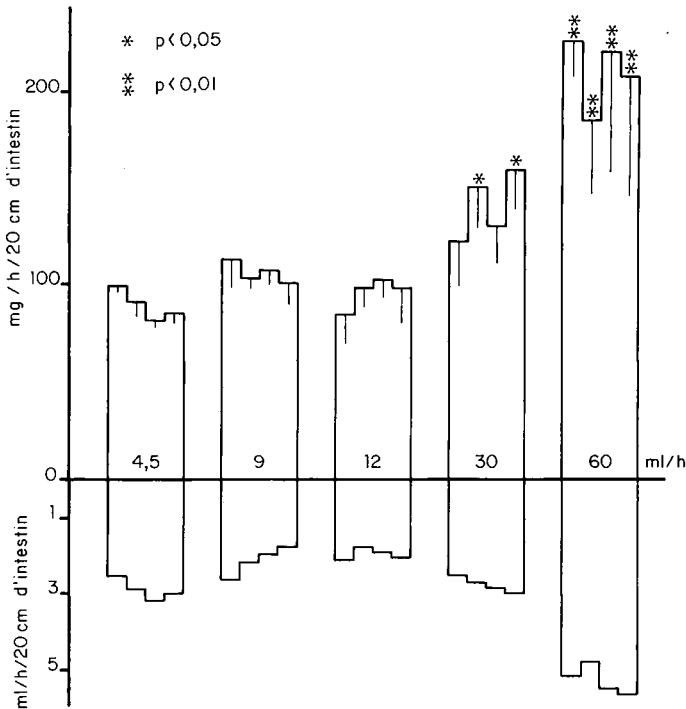


FIG. 1. — *Absorption intestinale du glucose et de l'eau.* Chaque perfusion dure 4 h. Pour un débit donné le nombre d'animaux utilisés est de 6 et les histogrammes sont les moyennes des quantités du glucose absorbées obtenues après chaque heure de perfusion. Les barres représentent l'erreur type. Le test t est pratiqué entre les valeurs obtenues après les perfusions au débit 4,5 ml/h et celles correspondantes des perfusions pratiquées avec d'autres débits (* = $p < 0,05$ et ** = $p < 0,01$).

4,5 ml/h diminue aux 3^e et 4^e heures de perfusion (de 101 et 93 mg à 85 et 86 mg/h/20 cm d'intestin). L'absorption du glucose reste la même lorsque le débit est porté à 9 et 12 ml/h. Par contre, les quantités du glucose absorbées sont augmentées de façon significative avec les débits 30 et 60 ml/h. Leur valeur moyenne s'élève à 143 et 223 mg/h/20 cm d'intestin. Ainsi le débit de perfusion a augmenté de 6,6 et 13 fois, et l'absorption du glucose seulement de 1,5 et 2,4 fois.

En ce qui concerne l'absorption de l'eau accompagnant celle du glucose, elle est peu sensible à l'augmentation des débits et diminue même sous l'effet des perfusions à 9 et 12 ml/h. Seule la perfusion du glucose avec le débit 60 ml/h augmente fortement l'absorption de l'eau qui atteint alors une valeur moyenne de 5,27 ml/h/20 cm d'intestin.

2) *Perfusions intestinales du fructose* (fig. 2). — Lorsque l'on perfuse l'intestin avec du fructose au débit de 4,5 ml/h, on constate que l'absorption intestinale du fructose diminue également à la fin de l'expérience (de 78 mg à la 1^{re} heure à 45 mg/h/20 cm d'intestin à la 4^e heure).

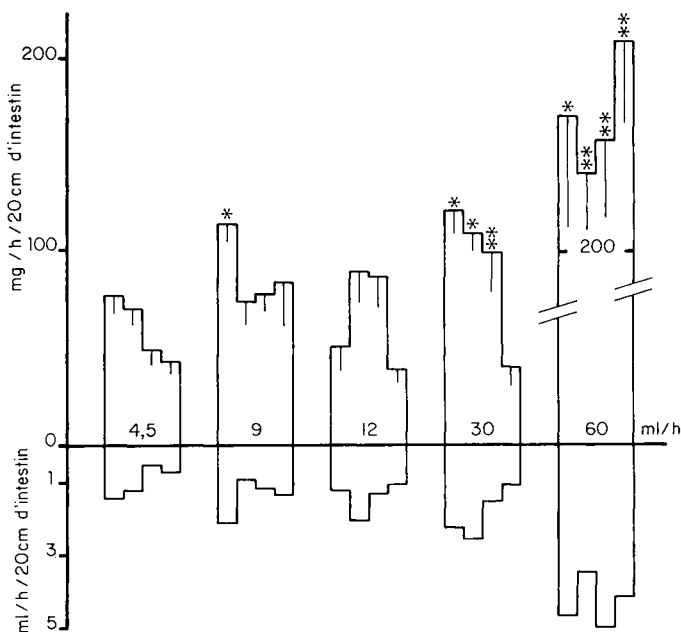


FIG. 2. — *Absorption intestinale du fructose et de l'eau.* Chaque perfusion dure 4 h. Pour un débit donné le nombre d'animaux utilisés est de 6 et les histogrammes sont les moyennes des quantités de fructose absorbées obtenues après chaque heure de perfusion. Les barres représentent l'erreur type. Le test t est pratiqué entre les valeurs obtenues après les perfusions au débit 4,5 ml/h et celles correspondantes des perfusions pratiquées avec d'autres débits (* = $p < 0,05$ et ** = $p < 0,01$).

Contrairement à l'absorption du glucose, elle varie de façon irrégulière sous l'effet de l'accroissement des débits de perfusion. Elle est augmentée au cours de la 1^{re} heure de perfusion avec le débit 9 ml/h alors qu'elle n'est pas modifiée par le débit 12 ml/h. Puis, l'absorption du fructose augmente pendant les 3 premières heures de perfusion avec un débit horaire de 30 ml/h. Cette absorption devient encore plus élevée au cours des perfusions avec un débit de 60 ml/h, en particulier à la 4^e heure (332 mg/h/20 cm d'intestin).

En présence de fructose, l'absorption de l'eau est faible. Elle augmente peu pour

des débits allant de 4,5 ml à 30 ml/h. Par contre, sous l'effet du débit de 60 ml/h elle devient élevée comme dans le cas de perfusion du glucose (4,27 ml/h/20 cm d'intestin).

3) *Perfusion intestinale du saccharose* (fig. 3). — Pour les perfusions pratiquées avec un débit 4,5 ml/h, l'hydrolyse du saccharose décroît en fonction du temps comme en témoigne l'absorption du glucose et du fructose libérés par cette hydrolyse. Le premier hexose est absorbé en plus grande quantité que le second.

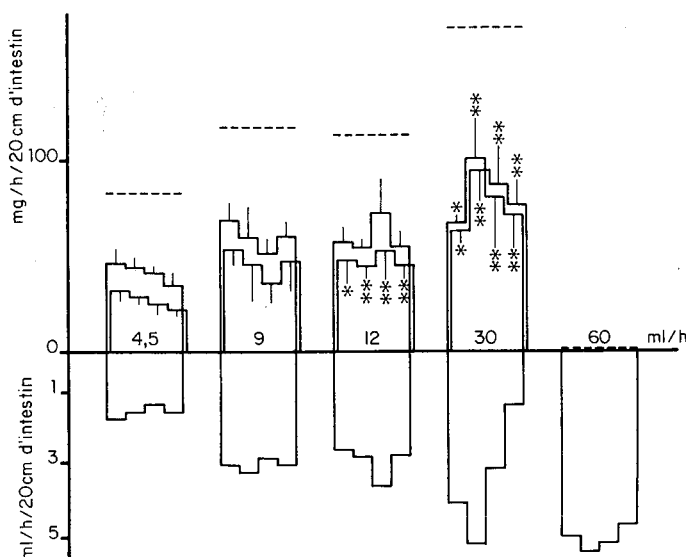


FIG. 3. — *Absorption intestinale du glucose et du fructose libérés après hydrolyse du saccharose et de l'eau.* Chaque perfusion dure 4 h. Pour un débit donné, le nombre d'animaux utilisés est de 4 et les histogrammes sont les moyennes des quantités du glucose et du fructose libérées et absorbées après chaque heure de perfusion. Les histogrammes du fructose sont décalés vers la droite. Les traits en pointillés représentent les quantités du saccharose hydrolysées. Les barres représentent les erreurs types. Le test t est pratiqué entre les valeurs obtenues après les perfusions au débit 4,5 ml/h et celles correspondantes des perfusions pratiquées avec d'autres débits (* = $p < 0,05$ et *** = $p < 0,01$).

Cette hydrolyse devient irrégulière lorsque le débit de perfusion est porté à 9 et 12 ml/h. Puis, elle est ensuite nettement accrue sous l'effet d'une perfusion à 30 ml/h. Il en est de même pour l'absorption des hexoses ainsi libérés.

Contrairement à toute attente, la perfusion du saccharose avec le débit 60 ml/h provoque une inhibition totale de cette hydrolyse. On retrouve la même quantité de saccharose dans le perfusât récolté à la sortie de l'anse intestinale.

Si l'on examine l'absorption de l'eau en présence de saccharose, on constate qu'elle présente pour les faibles débits un niveau intermédiaire entre ceux observés au cours des perfusions du glucose et du fructose dans les mêmes conditions. Puis elle atteint également le niveau élevé caractéristique du débit 60 ml/h (5,03 ml/h/20 cm d'intestin).

Discussion.

L'examen comparatif des résultats obtenus montre qu'une variation de débits de perfusion de 4,5 à 12 ml/h ne modifie pas dans nos conditions expérimentales ni la digestion du saccharose ni l'absorption intestinale du glucose et du fructose. On peut accélérer 2,6 fois l'écoulement du perfusé sans modifier les niveaux d'hydrolyse et d'absorption des glucides pour une anse jéjunale de 20 cm de longueur. De même, en faisant varier les débits de 2,9 à 29,6 ml/h, Middleton (1979) a également constaté, chez le rat, que cette variation n'influence pas l'absorption intestinale du pyridoxal-phosphate. Il faut remarquer que cet auteur a expérimenté sur une anse jéjunale de 5 cm de longueur. Il est évident que celle-ci offre moins de résistance à l'écoulement du perfusé.

Dans nos expériences qui utilisent une anse jéjunale plus longue, la valeur 12 ml/h est la valeur limite d'un débit de perfusion respectant les fonctions de l'intestin. En effet, lorsque le débit atteint la valeur 30 ml/h, il y a augmentation de l'absorption et de l'hydrolyse des sucres mais également égalisation des vitesses d'absorption du glucose et du fructose provenant de l'hydrolyse saccharasique (fig. 3). En ce qui concerne le glucose et le fructose perfusés sous leur forme libre, ce phénomène est perçu nettement lorsqu'on utilise un débit horaire de 60 ml/h (fig. 1 et 2). Or, il est bien connu que le glucose est absorbé par l'intestin plus rapidement que le fructose. L'absorption en égales quantités de ces deux hexoses montre que les propriétés fonctionnelles de l'intestin sont perturbées sous l'effet d'une perfusion à débit élevé.

Certes, les résultats obtenus par Lewis et Fordtran (1975) au cours des perfusions de l'iléon de rat avec une solution isotonique de faible concentration de glucose (4 mM) semblent montrer que d'une part, l'intestin de rat peut supporter des débits de perfusion plus élevés (200 ml/min ou 12 000 ml/h), et d'autre part, que l'augmentation de l'absorption du glucose consécutive à un accroissement de débit est due à une réduction, par définition non traumatisante, de la couche d'eau non agitée, réduction qui permettrait une meilleure diffusion du glucose intraluminal vers les sites du transport actif des cellules absorbantes. Or, l'augmentation du débit de perfusion de 10 à 100 ml/min pratiquée par ces auteurs correspondrait plutôt à une fourniture plus grande de quantité de glucose à l'anse iléale où la concentration du glucose reste malgré tout inférieure à la concentration saturant son système transporteur. Elle doit obligatoirement entraîner une augmentation de l'absorption du glucose (Dietschy, 1970).

Par ailleurs Lewis et Fordtran (1975), en utilisant une concentration de glucose plus élevée (72 mM), n'ont pu observer aucune modification d'absorption pour des débits allant de 10 ml/min à la valeur extrême de 200 ml/min. On peut noter que la résistance de l'iléon déployé et étendu sur la paroi abdominale puis perfusé *ex vivo*, répond différemment de celle d'une anse iléale contenue dans la cavité de l'abdomen.

Quoi qu'il en soit, la réduction de la couche d'eau non agitée ne saurait expliquer l'égalisation des vitesses d'absorption du glucose et du fructose, et encore moins l'inhibition de l'activité saccharasique lors des perfusions avec le débit 60 ml/h.

La non-disparition du saccharose au cours de ces perfusions montre que la perméabilité de l'intestin aux différentes substances n'est pas modifiée, tout au moins

pour des molécules des dimensions du saccharose. Les concentrations des perfusats utilisées dans nos expériences ont ainsi été choisies de telle manière qu'elles soient nettement hypotoniques (< 230 mOsm) pour éviter un changement de perméabilité par hypertonie (Wheeler, Menzies et Creamer, 1976), et suffisamment élevée (> 100 mM) pour saturer les systèmes transporteurs (Csaky et Autenrieth, 1975) et la saccharase (Dahlqvist, 1964). Dans ces conditions, les phénomènes observés seraient dus à un effet mécanique provoqué par un débit de perfusion élevé.

Ainsi, l'absence d'activité de la saccharase sous l'effet du débit 60 ml/h serait la conséquence d'un tassement du glycocalyx qui empêcherait la formation du complexe enzyme-substrat (Ugolev et De Laey, 1973). La possibilité d'une inhibition de la saccharase par la rétroaction de ses produits d'hydrolyse ne pourrait être invoquée puisque le perfusat récolté est pratiquement exempt d'hexoses. D'autre part, si l'on ramène après une heure de perfusion le débit de 60 à 12 ml/h, on constate que l'hydrolyse du saccharose, d'abord inexistante, devient effective au débit limite 12 ml/h établi dans nos conditions expérimentales. Il se poserait alors le problème de savoir dans quelle mesure on peut considérer, au cours des perfusions à débit élevé, l'augmentation du transport d'un nutriment directement absorbable comme la conséquence unique d'une meilleure diffusion du soluté au travers du glycocalyx (Winne, 1976).

En conclusion, la variation des fonctions d'absorption et de digestion de l'intestin à la suite d'une augmentation de la vitesse d'écoulement du liquide intraluminal pourrait être étudiée de façon plus exhaustive à l'aide de plusieurs nutriments pour s'assurer de l'intégrité fonctionnelle de l'intestin. En ce qui concerne l'étude de l'absorption des glucides, le choix d'un débit optimal de perfusion intestinale sera judicieusement déterminé par une mesure comparative de l'absorption du glucose, du fructose et du saccharose.

*Journées Ingestion-Digestion-Absorption
de l'Association française de Nutrition,
Paris, 15-16 novembre 1979.*

Références

- ASSAMI M. K., 1974. *Digestion intestinale du saccharose chez le rat : Effet du fructose*. Th. Doct. 3^e Cycle, Paris, 77 pp.
- BRONK J. R., INGHAM P. A., 1979. Sugar transfer from the lumen of the rat small intestine to vascular bed. *J. Physiol. London*, **289**, 99-113.
- CSAKY T. Z., AUTENRIETH B., 1975. Transcellular and intercellular intestinal transport, 177-185, In CSAKY T. Z., *Intestinal absorption and malabsorption*, Raven Press, N. Y.
- DAHLQVIST A., 1964. Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal. Biochem.*, **7**, 18-25.
- DAHLQVIST A., BORGSTRÖM B., 1961. Digestion and absorption of disaccharidases in man. *Biochem. J.*, **81**, 411-418.
- DIETSCHY J. M., 1970. Difficulties in determining valid rate constants for transport and metabolic processes. *Gastroenterology*, **58**, 863-874.
- ESPOSITO G., FAELLI A., CAPRARO V., 1973. Sugar and electrolyte absorption in the rat intestine perfused *in vivo*. *Pflügers Arch.*, **340**, 335-348.
- HUGGETT A., NIXON D. A., 1957. Use of glucose oxidase, peroxidase and o-dianisine in determination of blood urinary glucose. *Lancet*, **2**, 236.
- KLOTZCH N., BERGMAYER H. U., 1965. D-Fructose, 156-159. In BERGMAYER H. U., *Methods of enzymatic analysis*, Acad. Press, N. Y.

- LEE J. S., 1973. Effects of pressure on water absorption and secretion in rat jejunum. *Amer. J. Physiol.*, **224**, 1338-1344.
- LEWIS L. D., FORDTRAN J. S., 1975. Effect of perfusion rate on absorption, surface area, unstirred water layer thickness, permeability, and intraluminal pressure in the rat ileum *in vivo*. *Gastroenterology*, **68**, 1509-1516.
- MALATHI P., RAMASWAMY K., CASPARY W. F., CRANE R. K., 1973. Studies on the transport of glucose from disaccharides by hamster small intestine *in vitro*. I. — Evidence for a disaccharidase-related transport system. *Biochim. biophys. Acta*, **307**, 613-626.
- MIDDLETON H. M., 1979. Intestinal absorption of pyridoxal-5'-phosphate : Disappearance from perfused segment of rat jejunum. *J. Nutr.*, **109**, 975-981.
- PHAN H. H., 1971. *Influence de l'acide pantothenique sur l'absorption intestinale du glucose et son devenir chez le rat*. Th. Doct. ès Sci. (Paris), 160 pp.
- PHAN H. H., LE VAN H., 1976. Quelques aspects de la digestion et de l'absorption du saccharose chez le rat adulte, *Commun. J. Physiol.*, **73**, 24 A.
- UGOLEV A. M., DE LAEY P., 1973. Membrane digestion. A concept of enzymic hydrolysis on cell membranes. *Biochim. biophys. Acta*, **300**, 105-128.
- WINNE D., 1976. Unstirred layer thickness in perfused rat jejunum *in vivo*. *Experientia*, **32**, 1287-1279.
- WHEELER P., MENZIES I. S., CREAMER B., 1976. Patterns of small intestinal permeability and the effect of hypertonic solutions. *Gut*, **17**, 386-387.
-