

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica  
Sección de Fisiología Animal. — Barcelona.  
(Prof. F. Ponz)

## Acción de los fosfatos sobre la absorción intestinal de glucosa

por J. Larralde\* y F. Ponz

(Recibido para publicar el día 13 de julio de 1950)

Desde hace largo tiempo se han venido relacionando los fosfatos con la absorción selectiva de azúcares. Magee y Reid (6), con el método de Cori, encontraron que si se administraba glucosa disuelta en solución de fosfatos al 0,2 % de pH 7, las ratas absorbían una cantidad de azúcar un 50 % más alta que la absorbida disolviéndola en agua, mientras que la absorción de xilosa no se modificaba por los fosfatos; éstos carecían también de efecto sobre la absorción de glucosa por intestino aislado perfundido. Con la técnica de asas cerradas «in situ», Wilbrandt y Laszt (12) confirmaron el aumento de absorción por los fosfatos, lo que les sirvió en parte de base para enunciar la hipótesis de la fosforilización de los azúcares selectivos en que ya pensaban Magee y Reid. Poco más tarde, Laszt (3) comparó la acción de tal mezcla amortiguadora de fosfatos a pH 7 con otras de boratos y acetatos del mismo pH y dedujo que la aceleración del proceso de absorción se producía no por los fosfatos en sí, sino por la acción *buffer*, consiguiendo el mismo aumento con los otros sistemas amortiguadores exentos de fosfatos.

Sin embargo, Cajori y Karr (1), estudiando la absorción de hexosas en perros con asa de Thyri, no pudieron observar ninguna aceleración de la absorción de glucosa, galactosa o fructosa por la presencia de fosfatos. Y Westenbrinck (11) tampoco encuentra aumentos de absorción debidos a los fosfatos en ratas con el método de Cori, y sí en cambio una inhibición de un 20 % en la misma, si la concentración de fosfatos era suficientemente alta.

Parecía, pues, de interés investigar la acción de los fosfatos

\* Con una beca del Patronato Juan de la Cierva.

sobre la absorción intestinal de la glucosa mediante la técnica de absorciones sucesivas de Sols y Ponz (9) que proporciona resultados de mayor valor comparativo. Comenzamos por ver la influencia que pudiera tener un fosfato orgánico (el glicerofosfato) que influye sobre la absorción de grasas (10,2), luego fosfato inorgánico a muy débil concentración, y por último fosfato inorgánico a la concentración utilizada por Magee y Reid y Laszt.

### Métodos

Se utiliza el método de absorciones sucesivas de Sols y Ponz (9), con ratas de 120 a 225 g., asas de unos 20 a 30 cm. de longitud, 10 c.c. de solución a absorber, presión de repleción de 12 cm. de agua, y tiempo de absorción de 15, 20 ó 30 minutos según las series.

Las soluciones a absorber se preparaban disolviendo la glucosa simplemente en agua destilada o en soluciones de glicerofosfato sódico al 2 % o de mezcla amortiguadora de fosfatos al 0,02 % o al 0,2 %, de modo que la concentración final del azúcar fuera siempre 5,4 %. Para corregir la ligera alcalinidad de las soluciones de glicerofosfato se llevaban previamente hasta pH 7 con ClH 0,1 N. Las soluciones de fosfatos (fosfato monopotásico y fosfato disódico) se preparaban para pH 7.

La determinación de la glucosa residual se hacía fotocolorimétricamente mediante la modificación de Sols (7) al método de Folin y Wu.

### Resultados\*

Los resultados se expresan siempre en micromoles de glucosa absorbidos por centímetro de intestino (medidas sin distensión del asa intestinal). En las tablas se indica la temperatura media de cada animal durante las experiencias; las desviaciones máximas a lo largo de las pruebas en un mismo animal nunca fueron superiores a  $\pm 0,4^{\circ}$  C. Para cada animal se calcula la diferencia entre las medias de absorción en ausencia y en presencia de fosfatos y se expresa en tanto por ciento de aumento o disminución respecto de la absorción de glucosa sin fosfatos (Difs. %). El orden de sucesión de las pruebas en cada animal se expresa asimismo en la tabla junto con la indicación de la naturaleza de la disolución a absorber: glucosa sola (G), glucosa con glicerofosfato (G + Gf) o glucosa con fosfatos (G + P).

\* Agradecemos a la señorita Ruíz su colaboración en la parte experimental.

1. *Glicerofosfato sódico.*

Se han hecho experiencias con tiempos de absorción de 15, 20 y 30 minutos. En las de 15 y 20 minutos se hacían cuatro absorciones sucesivas en cada animal: la 1.<sup>a</sup> y 3.<sup>a</sup> con glucosa sin glicerofosfato, y la 2.<sup>a</sup> y 4.<sup>a</sup> de glucosa con glicerofosfato. En la serie de 30 minutos sólo se han hecho tres pruebas sucesivas por animal: 1.<sup>a</sup> y 3.<sup>a</sup> con glucosa sola y la 2.<sup>a</sup> con glucosa y glicerofosfato. Los resultados aparecen en la Tabla I y prueban que el glicerofosfato no ejerce influencia apreciable sobre la absorción de glucosa en las condiciones de trabajo.

TABLA I

Absorción intestinal de glucosa al 5.4 % en agua (G) o en disolución de glicerofosfato sódico al 2 % (G + Gf)

Peso (g)	Log. Intest. (cm.)	Temp. <sup>a</sup>	Glucosa absorbida ( $\mu$ M/cm.)				Dif. %
			1. G	2. G + Gf	3. G	4. G + Gf	
Absorciones de 15 minutos							
129	32	37.4	16.1	14.3	15.8	14.7	- 9.0
143	33	37.0	17.7	16.0	15.7	16.6	- 2.4
147	27	37.1	23.6	20.5	22.6	21.2	- 9.7
132	31	37.7	19.2	20.3	20.0	20.3	+ 3.4
161	29	38.0	18.5	18.9	17.8	19.0	+ 4.6
		<i>Medias</i>	19.0	18.0	18.4	18.4	- 2.6
Absorciones de 20 minutos							
211	23	38.5	44.5	47.3	38.1	36.0	+ 0.7
185	20	37.2	27.7	30.5	33.3	27.5	- 4.9
216	30	38.0	22.2	23.3	20.5	19.2	- 0.4
195	21	37.7	30.5	28.3	27.1	25.4	- 6.7
156	24	37.5	22.1	24.4	27.4	26.1	+ 2.0
217	20	38.0	24.4	26.3	28.9	27.7	+ 1.3
164	26	37.4	33.5	39.3	35.1	40.2	+ 15.8
201	28	37.0	21.5	25.3	27.2	22.1	- 2.4
		<i>Medias</i>	28.3	30.6	29.7	28.0	+ 1.0
Absorciones de 30 minutos							
138	20	36.8	54	60	51		+ 14.3
114	22	37.0	41	42	46		- 3.4
145	24	36.7	56	46	47		- 10.6
127	21	37.5	34	27	32		- 18.2
149	19	37.2	38.5	41	43		+ 0.7
122	18	37.8	36	33	39		- 12.0
157	20	38.1	45	42.5	42		- 2.3
107	24	37.6	28.5	35	31		+ 17.8
134	21	38.3	34.5	41	43		+ 5.9
196	26	37.2	46	43	33		+ 8.8
175	24	37.0	49	48	44		+ 3.2
178	21	37.7	36.5	30.7	34.5		- 13.5
		<i>Medias</i>	41.6	40.8	40.5		- 0.7

## 2. Fosfato inorgánico.

En todos los casos se hicieron cuatro absorciones sucesivas en cada animal y siempre en la 1.<sup>a</sup> y 3.<sup>a</sup> se introducía solución de glucosa en agua mientras que en la 2.<sup>a</sup> y 4.<sup>a</sup> la solución contenía fosfatos.

La Tabla II reúne los resultados de absorción de glucosa sola y de glucosa disuelta en solución de fosfatos al 0,02 %, en pruebas de 20 minutos de duración. Esta concentración tan débil de fosfatos, aunque más próxima a la que se produce por secreción de fosfatos en condiciones fisiológicas por estímulo de los azúcares (5), no ejerce ningún efecto acelerador de la absorción de la glucosa.

Con más detenimiento se ha investigado el efecto de los fosfatos al 0,2 %. La Tabla III recoge numerosas experiencias en tres series de 15, 20 y 30 minutos de duración. Las escasas diferencias que a veces se encuentran no son significativas y puede afirmarse la carencia de efecto de los fosfatos para acelerar la absorción de la glucosa.

TABLA II

Absorción intestinal de glucosa al 5.4 % en agua (G) y en disolución de fosfatasas al 0'02 % a pH 7 (G + P). Absorciones de 20 minutos

Peso (g)	Log. Intest. (cm.)	Temp.°	Glucosa absorbida ( $\mu$ M/cm.)				Dif. %
			1. G	2 G + P	3 G	4 G + P	
137	20	37.9	35	31.4	29.7	34	+ 1.2
145	29	38.2	28.9	27.8	30.5	32.2	0.—
152	27	37.4	29.0	31.2	30.5	28.0	— 0.5
128	25	37.5	25.4	24.1	27.3	25.2	— 6.4
		Medias	29.6	28.6	29.5	29.8	— 1.2

TABLA III

Absorción intestinal de glucosa al 5.4 % en agua (G) o en disolución de fosfatos al 0,2 % a pH 7 (G + P)

Peso (g)	Log. Intest. (cm)	Temp.°	Glucosa absorbida ( $\mu$ M/cm.)				Dif. %
			1. G	2 G + P	3. G	4. G + P.	
Absorciones de 15 minutos							
185	28	38	25.5	19.4	18.9	21.1	— 2.3
142	31	37	17.2	12.8	13.4	14.5	— 11.1
170	21	37.4	20.7	17.6	22.1	18.9	— 14.9
205	26	38.2	24.3	19.8	16.2	23.6	+ 7.4
		Medias	21.9	17.4	17.6	19.5	— 6.5

TABLA III (continuación)

Peso (g)	Log. Intest. (cm.)	Temp. <sup>a</sup>	Glucosa absorbida ( $\mu$ M/cm.)				Dif. %
			1. G	2 G + P	3. G	4. G + P.	
Absorciones de 20 minutos							
212	31	37.5	26.1	26.6	29.4	28.9	0.—
152	29	38.2	30.2	30.3	30.3	31.2	+ 1.6
130	30	37.0	27.2	27.1	23.9	25.5	+ 3.1
150	21	37.7	37.0	41.6	41.8	39.4	+ 2.8
173	26	37.4	33.1	33.8	32.6	32.0	+ 0.1
201	19	37.9	28.7	28.0	28.2	29.1	0.—
146	24	38.0	30.9	—	33.1	30.0	— 6.2
167	28	37.2	32.8	34.1	31.0	32.9	+ 5.0
		<i>Medias</i>	30.6	31.6	31.3	31.1	+ 1.3
Absorciones de 30 minutos							
120	22	38.0	37.5	44.4	37.8	33.3	+ 3.2
188	35	37.5	44.5	46.1	50.0	43.9	— 4.7
122	28.5	37.5	41.6	42.2	40.5	40.0	0.
156	27	37.7	47.0	49.1	46.2	47.3	+ 3.4
139	30	37.4	39.5	42.1	40.5	40.2	+ 3.—
		<i>Medias</i>	42.5	44.8	43.0	40.9	+ 0.5

### Discusión

Por el método de absorciones sucesivas de Sols y Ponz no se encuentra aumento de absorción selectiva por la presencia de glicerofosfato ni de la mezcla amortiguadora de fosfatos a pH 7, a concentraciones de 0,2 ó 0,02 %. El resultado positivo con fosfatos inorgánicos referido por Magee y Reid (6) con el método de Cori, tampoco pudo confirmarse por Westenbrink (11) con el mismo método, de acuerdo con el resultado igualmente negativo de Cajori y Karr (1) en asas de Thyri en perros. Nuestro trabajo viene a corroborar esta falta de capacidad de los fosfatos para aumentar la absorción de glucosa, a diferencia de Laszt (3). El buen número de animales en que hemos comprobado la misma falta de aceleración por los fosfatos en diferentes condiciones de tiempo y concentración, permiten dejar este hecho bien establecido.

La aceleración que refería Laszt (3), que suponía un aumento de más del 50 % en la absorción de glucosa por disolverla en solución amortiguadora de fosfatos (0,2 %) a pH 7 en lugar de en agua destilada, la atribuía como ya hemos dicho a la simple acción *buffer*, ya que la encontraba igual o aun mayor con boratos y acetatos del mismo pH; esto le llevaba a sugerir que el mantener el pH neutro debía favorecer algún proceso enzimático que se diera en la mucosa con óptimo a ese pH, en relación con su hipótesis de la fosforilización de los azúcares selectivos.

Si, como se deduce de nuestros resultados, los fosfatos a pH 7 no facilitan la absorción de glucosa, cabe pensar que el pH del contenido intestinal pueda mantenerse próximo a la neutralidad sin necesidad de soluciones amortiguadoras o que el referido pH no tenga tanta importancia en los procesos de selectividad, al menos mientras no se aparte mucho de la neutralidad. Es muy probable que el intestino posea capacidad amortiguadora suficiente para no permitir desplazamientos grandes del pH y mantenerlo próximo a 7, frente a los muy débiles factores de alcalinización o acidificación que puedan afectarle en experiencias de asas cerradas «in situ» o en las realizadas con el método de absorciones sucesivas.

Es interesante, sin embargo, el que Laszt (4) demostrara en ratas un claro efecto inhibitorio de la absorción de glucosa por la adición de cloruro de cerio a las soluciones, hecho que ha sido confirmado por Sols y Ponz (8) con la técnica de absorciones sucesivas en ratas y perros. Laszt lo atribuía a la acción precipitante del ión cerio sobre los fosfatos y con ello daba gran importancia al fósforo inorgánico segregado por el epitelio durante la absorción que, como había visto con anterioridad (5), seguía un curso característico según los azúcares. De ser cierta esta hipótesis, la cantidad de fosfato inorgánico necesario para la absorción selectiva sería extremadamente pequeña y, una vez cubierta, la presencia de un exceso de fosfato no reportaría ninguna ventaja para una mayor absorción. Así se explica que ni el glicerofosfato sódico como tal ni como fuente de fosfato inorgánico al ser hidrolizado por fosfatasas intestinales, ni los fosfatos al 0,02 % o al 0,2 % sean capaces de acelerar la absorción de glucosa.

### Resumen

Se estudia en ratas, por el método de Sols y Ponz de absorciones sucesivas, la influencia de los fosfatos en la absorción de glucosa.

No hay diferencia entre la absorción de glucosa al 5,4 % en agua y la de glucosa a igual concentración en soluciones de glicerofosfato sódico al 2 % o de mezcla de fosfatos al 0,02 ó 0,2 % a pH 7.

### Summary

The problem of the supposed action of phosphates increasing the intestinal absorption of selective sugars is revised. Experiments of successive absorptions (Sols and Ponz method) lasting 15, 20 or 30 minutes, were practiced in 46 rats. Glucose at 5.4 % concentration was dissolved in either distilled water or in phosphates solution (2 % sodium glycerophosphate neutralized at pH 7 with 0.1 N  $\text{CaH}$  and 0.02 % or 0.2 % inorganic phosphates in buffer mixture at pH 7). The intestinal absorption of glucose was not increased neither by glycerophosphate nor by inorganic phosphates.

**Bibliografía**

- (1) CAJORI, F. A., y KARR, W. G. : *J. biol. Chem.*, **109**, XIV, 1935.
- (2) CERA, B., y BELLINI, L. : *Pathologica*, **32**, 375. 1940.
- (3) LASZT, L. : *Biochem. Z.* **259**, 398. 1935.
- (4) LASZT, L. : *Schweiz. Med. Wschr.*, **72**, 193. 1942.
- (5) LASZT, L. y DALLA TORRE, L. : *Schweiz. Med. Wschr.*, **71**, 1416, 1941.
- (6) MAGEE, H. E. y REID, E. : *J. Physiol.*, **73**, 181, 1931.
- (7) SOLS, A. : *R. esp. Fisiol.*, **5**, 149. 1949.
- (8) SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **2**, 283. 1946.
- (9) SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **3**, 207. 1947.
- (10) VERZÁR, F. y LASZT, L. : *Biochem. Z.*, **270**, 24, 1934.
- (11) WESTENBRINK, W. y LASZT, L. : *Acta, brev. Néerl. Physiol.*, **6**, 36, 1936.
- (12) WILBRANDT, W. y LASZT, L. : *Biochem. Z.*, **259**, 398, 1933.

