

Laboratorio de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias
Universidad de Barcelona
(Prof. F. Ponz)

El efecto del ion uranilo sobre la absorción intestinal de glucosa

por F. Ponz

(Recibido para publicar el 3 de octubre de 1952)

Parece cada vez más probable que la absorción selectiva de azúcares exija la participación de todo un sistema de reacciones enzimáticas, unas implicadas directamente en el proceso de selectividad y otras en procesos distintos, pero necesarios para que aquél pueda tener lugar, sea por proporcionar la fuente energética precisa, sea por permitir la restauración de la misma, o por cualquier otra causa.

Para ir desentrañando el problema venimos realizando un estudio de los agentes capaces de influir sobre la absorción de glucosa (6, 8, 9, 10) y así podrá después discutirse el modo de acción de cada uno de ellos analizando los mecanismos parciales participantes, con lo que será posible comprender cómo pueden integrarse todos ellos en la bioquímica de la absorción selectiva.

En el presente trabajo investigamos la acción del ión uranilo. Rotshtein y colaboradores han publicado una larga serie de artículos (3, 11, 12, 13 y 14) sobre las relaciones de la superficie celular y el metabolismo, estudiando el efecto del uranio sobre el metabolismo de la glucosa y sobre su absorción por las células de la levadura. Llegan a la conclusión de que el uranio actúa sobre la superficie celular, impidiendo la penetración de la glucosa por formar complejos con polifosfatos necesarios para la misma. Era interesante estudiar su comportamiento frente a la absorción intestinal.

Material y métodos

Se ha utilizado el material y métodos descritos en trabajos previos. Ratas de 100 a 200 gramos, método de absorciones sucesivas de Sols y Ponz (18), con presión de repleción de 12 cm. de H_2O y treinta minutos de duración. Se ha utilizado el acetato doble de uranilo y sodio y el nitrato de uranilo, que quedaban disueltos a las concentraciones que se indican en las experiencias en las soluciones de glucosa al 5,4 %. La glucosa se determina según modificación del método de Somogy (16). Los resultados se expresan en micromoles de azúcar absorbido por centímetro de longitud fisiológica de intestino (19).

Resultados

I. — Efecto del acetato doble de uranilo y sodio

Se han realizado en cada rata cuatro absorciones sucesivas en la misma asa intestinal. En condiciones normales, las cuatro dan, con mucha aproximación, los mismos valores de azúcar absorbido (17) en el mismo tiempo (treinta minutos). En la primera absorción se dejaba en el intestino una solución de glucosa al 5,4 %. En la segunda, solución de glucosa al 5,4 % que contenía, además, acetato doble de uranilo y sodio a concentraciones entre M/10.000 y M/100. En la tercera, después de un buen lavado, solución de glucosa sin uranilo, y en la cuarta, de nuevo glucosa con uranilo a la misma concentración que en la segunda.

T A B L A I

Efecto del acetato doble de uranilo y sodio (AcUNa) sobre la absorción intestinal de glucosa (5,4 %) en la rata

Peso	Long. asa (cm.)	(AcUNa)	Absorciones ($\mu M/cm.$)			
			1.° G	2.° + AcUNa	3.° G	4.° G + AcUNa
150	16	M/100	5,6	2,3	4,5	2,7
170	20'5	M/100	6,8	2,5	5,0	2,3
140	16	M/200	6,3	2,8	4,8	2,2
155	23	M/750	7,8	5,5	6,5	4,0
135	21	M/1.000	6,9	5,2	4,5	3,7
150	20	M/1.000	6,5	4,8	3,9	3,4
145	22	M/1.500	7,5	7,1	6,5	4,8
150	18	M/2.500	7,5	7,1	6,3	5,3
165	23	M/10.000	8,0	7,6	7,3	7,5
153	21	M/10.000	7,3	6,9	7,2	7,1

La tabla I expresa los resultados conseguidos. Un ensayo previo demostró que en la determinación de glucosa según la técnica que indicamos (16) no se ve influida por la presencia del acetato de uranilo y sodio a concentraciones del 1 % e inferiores. Al 10 %, sólo se provoca una inhibición muy ligera del desarrollo de color que supone encontrar valores un 5 % inferiores a los de glucosa.

Concentraciones M/10.000 no muestran efecto claro sobre la absorción. Mas a partir de M/2.500 se aprecia una inhibición, primero ligera, que se va acusando más a concentraciones superiores. Como puede apreciarse, el efecto es algo más marcado en la cuarta absorción (con nueva adición de sal) que en la segunda, especialmente en las concentraciones débiles. La tercera absorción con glucosa sin uranilo se muestra asimismo inhibida a pesar de haber arrastrado y lavado bien con suero fisiológico el contenido anterior. sin uranilo.

2. — Efecto del nitrato de uranilo

Se ha operado como en la experiencia anterior, incluyendo en segunda y cuarta absorción nitrato de uranilo a concentraciones entre M/1.000 y M/10.000. A estas concentraciones tampoco se influye la determinación cuantitativa de glucosa. Los resultados se reúnen en la tabla II.

TABLA II

Efecto del nitrato de uranilo (NU) sobre la absorción intestinal de glucosa (5'4 %) en la rata

Peso	Long. asa (cm)	(NU)	Absorciones (μ M/cm)			
			1.º G	2.º G+NU	3.º G	4.º G+NU
150	26'5	M/1.000	5,7	3,8	2,5	0,7
146	23	M/1.000	7,8	3,5	3,9	2,0
170	16	M/5.000	6,8	3,2	4,7	1,8
165	25	M/5.000	7,6	4,3	4	2,7
155	18	M/10.000	5,5	5,6	5,2	5,0
159	19	M/10.000	7,4	7,2	7	6,9
160	23	M/10.000	8,2	8,0	7,3	7,1
150	20'5	M/10.000	6,4	6,8	6,8	6,3

Las concentraciones M/5.000 son ya claramente eficaces inhibiendo en un 60 a 70 %, sobre todo en la cuarta absorción. Las M/10.000 no parecen tener efecto y las M/1.000 inhiben ya fuertemente. La tercera absorción, con glucosa sola, no es normal sino que muestra también reducciones notables.

Discusión

La fuerte acción inhibidora del uranio sobre el metabolismo de la glucosa por la levadura (Booy) fué atribuída por Muntz, Singer y Barron (7) a un efecto sobre la superficie celular. Rothstein y Larrabee (11) demostraron efectivamente cómo se fijaba con gran rapidez el uranio (nitrato de uranilo) en la superficie y que sólo muy poco y lentamente debía penetrar en las células. El uranio debería formar complejos altamente indisociados con grupos de la superficie celular que debían ser importantes para el metabolismo glucídico, explicando así el efecto inhibidor. Rothstein y colaboradores (13) comprobaron que el nitrato de uranilo inhibía hasta un 90 % el metabolismo glucídico de la levadura a concentraciones del orden de 10^{-5} M y de las curvas de inhibición obtenidas deducen que los grupos bloqueados por el uranio corresponden en sus 2/3 partes a grupos activos en el metabolismo glucídico.

Esta inhibición por el uranio afecta la respiración y a la fermentación de glucosa, más a ésta que a aquélla, y no influye apenas sobre la utilización de etanol o piruvato. El metabolismo endógeno de la levadura tampoco se afecta prácticamente, así como la degradación del glucógeno. En cambio, la síntesis de glucógeno a partir de glucosa, queda totalmente bloqueada a concentración 10^{-3} M, quedando el uranio sin influencia sobre la síntesis desde el etanol. Todo ello permitió deducir a Rothstein, Meyer y Hurwitz (14) que el uranio ejerce su acción no sobre los sistemas enzimáticos endocelulares del metabolismo glucídico, sino sobre los procesos inmediatos de utilización de las hexosas, en la superficie celular, es decir, en la fase de entrada en tal metabolismo. Mientras Barron y colaboradores (2) sugieren que el uranio disminuye la permeabilidad de la membrana a la glucosa por combinación con proteínas de la misma, los resultados de Rothstein hacen pensar más en un efecto específico sobre procesos enzimáticos en relación con la transferencia «activa» de los azúcares, que en la levadura debería ser semejante a lo que se cree ocurre en riñón e intestino. Rothstein y Meier (12), fundados en estudios cinéticos, sugieren que en la levadura el uranio debe formar complejos con polifosfatos de la superficie celular, lo que está de acuerdo con la presencia en ella de metafosfatos altamente polimerizados (15, 20). Juni y colaboradores (5) habían observado un activo intercambio de fósforo en la fracción metafosfato de la levadura, como consecuencia de la adición de glucosa al medio. Como es sabido, los polímeros de metafosfato poseen enlaces ricos en energía y Rothstein piensa en que pueden representar la reserva energética utilizada en las reacciones de fosforilación de las hexosas por la levadura, quedando bloqueados por el uranio al entrar éste en competencia

con los cationes divalentes Ca^{++} y Mg^{++} . Para la levadura, Hurwitz y Rothstein (3) descartan, de consideraciones cinéticas, que la absorción de glucosa se haga por simple difusión y afirman que la hipótesis más conforme con sus resultados es que en el proceso se dan alteraciones químicas de los azúcares por enzimas localizadas en la superficie celular.

En la absorción intestinal nos encontramos con acciones algo más débiles del uranilo, ya que a concentraciones 10^{-4} M no puede demostrarse aún efecto ni como nitrato, ni como acetato doble. Sin embargo, la inhibición aparece ya indudable a concentración $5,10^{-4}$ M de nitrato de uranilo. Las inhibiciones son algo más acusadas e inmediatas con el nitrato que con acetato doble de uranilo y sodio, debido, muy probablemente, a la menor disociación de esta última sal. Con nitrato de uranilo 10^{-3} M se consigue en la cuarta absorción (segunda absorción con uranilo) inhibiciones del 70 al 90 %. La inhibición no alcanza valores del 100 % ni con 10^{-2} M, lo que revela que el paso de la glucosa por el epitelio se hace en parte por procesos no sensibles al uranilo.

Nuestras investigaciones no han abordado el problema de la influencia del uranilo en el metabolismo glucídico de la mucosa intestinal, pero si como es muy probable, su comportamiento es semejante al que presenta en la levadura, hay que pensar en que ejerza también aquí su acción a través de la formación de complejos con grupos superficiales de las membranas del epitelio absorbente. Las terceras absorciones, en que se determina la capacidad absorbente del epitelio frente a una solución de glucosa sin uranilo, después de una absorción de glucosa con uranilo, no son ni con mucho normales; en unos casos se conserva o aún se patentiza más, el efecto inhibidor y en los más se encuentra algo mejorada la absorción, pero sólo en escasa proporción. Esto hace pensar en que el uranilo haya formado, efectivamente, complejos con grupos de la superficie celular, poco disociables, que no se liberan más que a lo sumo en pequeña proporción por los lavados y absorción siguiente sin uranilo.

La naturaleza de los grupos bloqueados por el uranilo, de importancia en la absorción intestinal de glucosa, no puede por ahora precisarse. Habría que descartar que sean los polifosfatos que Rothstein admite para la levadura, pues no se conoce estén presentes en la mucosa intestinal de rata y parece improbable que se encuentren metafosfatos de elevado peso molecular en los animales superiores [Ingelman (4)]. En la serie de estabilidades de complejos de uranio con diferentes sustancias investigada por Rothstein y Meier (12), determinada según la competencia entre tales compuestos y la levadura respecto del uranio, aparecen el pirofosfato, tripolifosfato, ATP y metafosfato con una afinidad del orden de

10 a 20 veces menor que la que tiene para los polimetafosfatos. El citrato, ácido adenílico, tri y tetrametafosfato, hexosadifosfato, ortofosfato y glucosafosfato tienen ya afinidades de 800 a 3.000 veces menor. Dadas las concentraciones eficaces sobre la absorción intestinal de glucosa, es más probable que el uranilo forme complejos con sustancias del primero de estos dos grupos, y entre ellas el ATP aparece como el que puede tener más parte en la absorción selectiva de glucosa.

Podemos sugerir, según esto, que el ión uranilo bloquea moléculas de ATP o de algún otro donador de energía con afinidad semejante para el mismo, que estarían en la superficie celular, inhibiendo con ello la transferencia activa de glucosa.

Resumen

Se investiga en ratas, por la técnica de absorciones sucesivas de Sols y Ponz, el efecto del ión uranilo sobre la absorción intestinal de glucosa. Se encuentra inhibida la absorción con concentraciones de acetato doble de uranilo y sodio M/2.500 y superiores, y con nitrato de uranilo M/5.000 y superiores, sin llegar a suprimirla. El efecto inhibitor no desaparece en absorciones sucesivas aun después de lavado abundante del asa intestinal. Se sugiere que el uranilo forma complejos con sustancias presentes en la membrana celular importantes para la transferencia activa de la glucosa, quizá con el ATP.

Summary

The effect of uranyl on the intestinal absorption of glucose in rats is investigated by Sols and Ponz's method of successive absorptions. The uranic salts are dissolved in the solutions to be absorbed. Uranyl and sodium acetate inhibits in concentrations M : 2.500 and above and uranyl nitrate in concentrations of M : 5.000 and above. The maximum inhibitions found are of 80 to 90 per cent. The effect of inhibition persists even after abundant washings. It is suggested that, similar to the findings of Rothstein and col, in yeast, uranyl must form not easily dissociable compounds with substances present in the cellular membrane, these substances being important for active glucose transference. In the intestinal mucous membrane this would not take place with polymetaphosphates but with other compounds, perhaps ATP.

Bibliografía

- (1) BOOY, H. L. : *Rev. Trav. botan. Neerland*, **37**, 1, 1940.
- (2) BARRON, E. S. G., MUNTZ, J. A., Y GASVODA, B. : *J. gen. Physiol.*, **32**, 163, 1948.
- (3) HURWITZ, L., Y ROTHSTEIN, A. : *J. cell. comp. Physiol.*, **38**, 437, 1951.

- (4) INGELMAN, B. : En *The Enzymes* (J. B. Sumner y K. Myrbäck). Vol. I, PI, p. 516, Academic Press, Inc., New York, 1950.
- (5) JUNI, E., KAMEN, M. D., REINER, J. M., y SPIEGELMAN, S. : *Arch. Biochem.*, **18**, 387, 1948.
- (6) LARRALDE, J. : *R. esp. Fisiol.*, **4**, 333, 1948.
- (7) MUNTZ, J. A., SINGER, T. P. y GUZMÁN BARRÓN, E. S. : *The effect of Uranium on the metabolism of yeast and bacteria*, MDDC, n.º 759, (U. S. A. E. C.).
- (8) PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **8**, 71, 1952.
- (9) PONZ, F., y LARRALDE, J. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 271, 1950.
- (10) PONZ, F., y LARRALDE, J. : *Nature*, **168**, 912, 1951.
- (11) ROTHSTEIN, A., LARRABEE, C. : *J. cell. comp. Physiol.*, **32**, 247, 1948.
- (12) ROTHSTEIN, A. y MEIER, R. : *J. cell. comp. Physiol.*, **38**, 245, 1951.
- (13) ROTHSTEIN, A., FRENKEL, A., y LARRABEE, C. : *J. cell. comp. Physiol.*, **32**, 261, 1948.
- (14) ROTHSTEIN, A., MEIER, R., y HURWITZ, L. : *J. cell. comp. Physiol.*, **37**, 57, 1951.
- (15) SCHMIDT, G., y HECHT, L. : *J. Biol. chem.*, **178**, 733, 1949.
- (16) SOLS, A. : *R. esp. Fisiol.*, **5**, 149, 1949.
- (17) SOLS, A., y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **2**, 283, 1946.
- (18) SOLS, A., y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **3**, 207, 1947.
- (19) VIDAL-SIVILLA, S., SOLS, A., y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 195, 1950.
- (20) WIAME, J. M. : *J. biol. chem.*, **178**, 919, 1949.