

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

Relaciones entre la absorción selectiva de azúcares y algunos inhibidores enzimáticos

por **Francisco Ponz y Jesús Larralde**

(Recibido para publicar el día 5 de abril de 1952)

Se acepta generalmente que la absorción selectiva de azúcares está vinculada a procesos de fosforilación y defosforilación. Sin embargo, no está ni con mucho resuelto el problema de qué fosforilaciones y defosforilaciones concretas están implicadas, ni siquiera de si afectan fundamentalmente a las moléculas penetrantes mismas o a reacciones metabólicas en la célula necesarias para aportar la energía que requiere la absorción selectiva.

La relación entre fosforilación y selectividad se estableció como consecuencia de dos tipos de datos: la riqueza de la mucosa intestinal en fosfatasas (Kay) y especialmente la inhibición de la selectividad por inhibidores de la fosforilación, como el ácido monoyodoacético (Wilbrandt y Laszt) y la florricina (Lundsgaard y Wertheimer). Laszt (19) comprobó que los azúcares selectivos podían esterificarse «in vitro» con extracto de mucosa intestinal y que se inhibía el proceso por el monoyodoacetato. Posteriormente se reconoció que la fracción de fósforo éster en la mucosa aumentaba durante la absorción de azúcares selectivos (21) y que ello se daba sin variación apreciable del fósforo total, en parte al menos a expensas del fósforo inorgánico (25). Otros trabajos de la escuela de Lundsgaard (10, 11) demostraron que durante la absorción había realmente procesos de fosfo y defosforilación y que se formaban ésteres hexosafosfóricos en las células epiteliales dependientes de las hexosas absorbidas.

Para analizar el metabolismo celular en relación con la absorción selectiva, hemos venido trabajando en el estudio de las fosfatasas de la mucosa intestinal y de la correlación entre las varia-

ciones de la actividad fosfatásica y la absorción de azúcares. Así hemos visto que las ratas diabéticas por aloxano, con absorción aumentada, tenían incluso un ligero descenso de la actividad fosfatásica (Larralde, 15); durante el ayuno, disminuye rápidamente la absorción mientras las fosfatasas quedan inalteradas hasta estados finales (16); la aloxana en la solución a absorber sólo disminuye la absorción en concentraciones fuertes (Larralde, 17), mientras las fosfatasas son inhibidas por la droga (Larralde y Ponz, 18); como el pH podía afectar los procesos enzimáticos en relación con la absorción, hemos estudiado también la influencia que pudiera tener sobre ésta, encontrando un óptimo de pH 6,5 — 7,5 (29,30). En el presente trabajo, se ha ensayado la influencia de una serie de inhibidores enzimáticos sobre la absorción de glucosa, tratando de relacionar los resultados con su comportamiento frente a las fosfatasas.

Material y métodos

Se han utilizado ratas blancas de 100 ó 200 gramos de peso. Se seguía el método de absorciones sucesivas de Sols y Ponz (36,40), con presión de repleción de 12 cm., y treinta minutos de duración y glucosa al 5,4 %. Las drogas en estudio eran adicionadas disolviéndolas en las soluciones de glucosa. La temperatura de los animales durante las experiencias no sufrió desviaciones superiores a $\pm 0.2^{\circ}$ C.

La determinación de azúcares se hizo según el método colorimétrico de Somogy modificado por Sols (34) y adaptado a nuestro trabajo. El azúcar absorbido se expresa en micromoles por centímetro de longitud fisiológica del intestino (40).

Para la determinación de fosfatasas se siguió el método de Sols y Ponz (35) con β -glicerofosfato sódico y amortiguador acetato-veronal. La solución de fosfatasa se obtenía por autolizado de intestino de rata (veinticuatro horas en agua clorofórmica al 1 % en peso).

Resultados

1. — Absorción de glucosa en presencia de monoyodoacetato

Se ha ensayado la influencia del ácido monoyodoacético sobre la absorción de glucosa, a concentraciones comprendidas entre M/500 y M/2500. Las soluciones quedaban dentro del pH óptimo y así no cabe atribuir los resultados a variaciones de pH.

De las cuatro absorciones sucesivas que se practicaban en la

misma asa de intestino de cada animal, la primera y la tercera eran sin ácido monoyodoacético y la segunda y cuarta con él.

La tabla I recoge las experiencias practicadas.

TABLA I

Absorción de glucosa (5,4 %) por el intestino delgado de rafa, en presencia de ácido monoyodoacético (MIA)

Peso g.	Acido monoyodoacético (concentración final)	Absorciones (μ M / cm.)			
		1.º G	2.º G + MIA	3.º G	4.º G + MIA
125	M/500	36,1	14,4	10,0	9
148	M/500	41,5	19,6	13,2	10
118	M/1000	32,5	11,7	10,8	8,1
134	M/1000	39,2	17,2	12,9	9,5
130	M/1500	39,6	36	39,2	18
152	M/1500	45,2	37,4	40,6	29,3
167	M/2000	36,5	33,1	11,7	7,6
125	M/2000	41,4	39,5	17,2	12,8
161	M/2500	37,5	32,3	35,6	34,1
130	M/2500	32,8	36,4	28,4	22,3
155	M/5000	42,6	39,5	38,9	38,1

El ácido monoyodoacético inhibe la absorción intestinal de glucosa, hasta a concentraciones de M/5000; el efecto es ya bien aparente desde M/2500. Sin embargo, es fácilmente apreciable que la inhibición persiste aún después de arrastrar la sustancia sustituyendo la solución a absorber por otra sin la droga; e incluso que en concentraciones débiles la primera absorción con monoyodoacetato es normal, mientras que la siguiente de glucosa sola queda ya inhibida: la influencia se ha ejercido sobre la célula epitelial, que ha quedado de tal modo afectada que en la siguiente absorción sin monoyodoacetato se absorbe en la mayoría de los casos todavía en menor proporción, o a través de una intoxicación general por el MIA absorbido. Las absorciones mínimas se encuentran en la cuarta absorción, en presencia del inhibidor, cuando el epitelio ha sufrido por segunda vez la acción de la droga. Se reduce en estos casos hasta valores de un 20 a 25 % de la absorción normal. Este efecto persistente del monoyodoacetato se pone mejor de manifiesto en los casos en que sólo está presente en la segunda absorción, después de la cual se arrastra el contenido y se lava el intestino con mucho más suero fisiológico que de costumbre, para eliminar al máximo el tóxico (tabla II); la

inhibición debida al MIA, se prolonga, después de arrastrar éste, durante tres absorciones sucesivas, con soluciones de glucosa sola.

TABLA II

Persistencia del efecto inhibidor del MIA sobre la absorción intestinal de glucosa al 5,4 %

Peso g.	MIA)	Absorciones (μ M/cm.)				
		1.ª G	2.ª G+MIA	3.ª G	4.ª G	5.ª G
130	M/1000	31,5	25,3	21,7	20,4	23
125	M/1000	29,7	23,2	20,1	24,5	21,8

2. — *Absorción de glucosa en presencia de florricina.*

La florricina quedaba en la solución de glucosa a absorber a concentraciones de M/500 a M/100.000. La primera y tercera absorción se hacía sin inhibidor y la segunda y cuarta en presencia de florricina.

En la tabla III se reúnen los resultados conseguidos.

TABLA III

Absorción de glucosa (5,4 %) por el intestino delgado de rata, en presencia de florricina.

Peso g.	Florricina	Absorciones (μ M/cm)			
		1.ª G	2.ª G+Flor.	3.ª G	4.ª G+Flor.
138	M/500	34	10'5	35	8,2
168	M/500	43	8,1	39	10,3
130	M/5000	47,2	28,8	49,1	31,2
142	M/5000	42,8	20,7	40,1	17,5
132	M/25000	40,5	17'5	43,4	26,1
158	M/25000	42	25'9	40,3	27,2
147	M/50000	45	33'6	44,2	32,7
120	M/50000	38,7	32'8	40,5	37,8
135	M/100000	42,3	37'8	38'5	39,4

La florricina posee una intensa acción inhibidora que se manifiesta incluso a concentraciones M/50000. El efecto se produce solamente en las absorciones de glucosa con florricina, recuperando el epitelio toda su capacidad absorbente en cuanto se arras-

tra la droga por el lavado. Con las más altas concentraciones ensayadas (M/500) se consigue reducir la absorción a un 20 ó 25 % de lo normal; con M/50000, a un 75 %.

3. — Absorción de glucosa en presencia de fluoruro sódico.

Hemos utilizado el FNa a concentraciones entre M/100 y M/500 en las absorciones 2.^a y 4.^a

Las experiencias se indican en la tabla IV.

TABLA IV

Absorción de glucosa (5,4 %) por el intestino delgado de rata, en presencia de fluoruro sódico

Peso	P Na	Absorciones (μ M/cm)			
		1. ^a G	2. ^a G+FNa	3. ^a G	4. ^a G+FNa
126	M/100	35,5	17,6	7	—
143	M/100	50,2	30,5	8	9
107	M/125	37,1	40,2	6	4
155	M/125	46,3	38,1	13,5	10
135	M/175	36,2	34,5	23,1	24
148	M/175	40,3	36,5	25,4	22
107	M/200	41,7	36,3	21,2	23
165	M/200	44,6	32,5	26,1	24
135	M/250	38,4	41,6	32,6	34
140	M/250	40,7	43,1	32,5	36
128	M/500	42,1	39,6	40,1	37

El fluoruro sódico aparece como inhibidor, pero su acción no es tan eficaz sobre la absorción en que está presente como en las posteriores. Parece así afectar la selectividad de modo no tan rápido como la florricina, pero sí más persistente, ya que el lavado del intestino no suprime la inhibición y, por el contrario, se presenta ésta mucho más intensa en la absorción inmediata sin fluoruro. En la tercera absorción, después de la segunda con FNa, la inhibición es a concentración M/100 de un 80 % (se absorbe un 20 % de lo normal) y a concentración M/250 ya sólo un 15 a 20 %. Si después de la segunda absorción, en presencia de fluoruro, se arrastra y lava abundantemente el contenido y luego se ensayan tres absorciones sucesivas más, en ausencia de fluoruro, se observa (tabla V) el mismo comportamiento: la absorción en estos ensayos sin fluoruro es aún menor que estando la droga

presente y este efecto se conserva al menos durante dos horas después de arrastrarla fuera del intestino.

TABLA V

Persistencia del efecto inhibitor del fluoruro sódico sobre la absorción intestinal de glucosa al 5,4 ‰

Peso g.	FNa	Absorciones (μ M/cm)				
		1.º G	2.º G+FNa	3.º G	4.º G	5.º G
120	M/200	29,1	26,3	23	21,4	22
95	M/175	35,2	28,5	25,1	23,2	19,6
155	M/175	33,8	28,2	24,8	22,7	25,6
135	M/175	41,6	35,7	30,3	27,2	24,5

4. — Absorción de glucosa en presencia de amidón.

El amidón (2-dimetilamino -4, 4-difenilheptanona -5) es un analgésico que inhibe la glucólisis de glucosa por cerebro de rata (7); se ha atribuido este efecto a la inhibición de la hexoquinasa. Hemos querido ver si esta droga ejercía alguna influencia sobre la absorción selectiva.

El amidón se ha ensayado a concentraciones entre 0,002 % y 0,6 % en la solución a absorber. De las 4 absorciones sucesivas, la primera y tercera eran normales y la segunda y cuarta con amidón. Los resultados aparecen en la tabla VI.

TABLA VI

Absorción de glucosa (5,4 ‰) por el intestino delgado de rata en presencia de amidón (Amd).

Peso	Concentración de amidón	Absorciones (μ M/cm.)			
		1.º G	2.º G+Amd	3.º G	4.º G+Amd
117	0,002 ‰	47,7	35,3	43,2	30
109	0,002 »	43,2	44,3	48,6	44,0
125	0,006 »	40,2	43,5	47	44,2
130	0,006 »	42,5	44,0	46	44
108	0,03 »	39,2	38,0	44	39,7
160	0,06 »	37,5	41,4	35,6	30,6
173	0,06 »	41,7	36,2	39,5	36,5
118	0,06 »	39,5	40,4	35,6	42,4
120	0,09 »	—	—	—	—

Se observa que el almidón no influye apreciablemente en la absorción selectiva. Concentraciones superiores a 0,08 % son tóxicas y los animales mueren sin que pueda determinarse la absorción correspondiente. Esto último demuestra, por otra parte, que la droga se absorbe bien y, por tanto, su presencia en el interior de la célula está asegurada, a pesar de lo cual no hay inhibición de la selectividad.

5. — *Acción del ácido monoyodoacético sobre la fosfatasa alcalina.*

Se ha observado la influencia del ácido monoyodoacético sobre la actividad fosfatásica de un autolizado 1/1000 de intestino de rata, frente a la hidrólisis del glicerofosfato a pH 9,4. Con las concentraciones de droga y la solución amortiguadora utilizada no había variación apreciable de pH.

Los valores medios de inhibición deducidos de 6 series de ensayos entre concentraciones de M/500 a M/10000 se incluyen en la tabla VII.

TABLA VII

Inhibición de la fosfatasa alcalina por el ácido monoyodoacético

Concentraciones de ácido monoyodoacético	M/500	M/750	M/1000	M/2000	M/5000	M/10.000
Inhibición (%)	40,2	37	28	21,3	6	—

La inhibición ya no se presenta a concentraciones M/10000 y sólo a partir de M/2000 se encuentra con seguridad. Puede ser interesante recordar que la inhibición de la absorción se produce a concentraciones entre M/2000 y M/500 con las que la inhibición de las fosfatasas alcanza valores del 20 al 40 %.

6. — *Florricina y actividad fosfatásica alcalina.*

La florricina no ejerce efecto sobre las fosfatasas alcalinas a concentraciones en que inhibe muy fuertemente la absorción. Se ensayaron las concentraciones M/5000, M/10000, M/25000, M/50000, M/100000 y M/250000 y no se encontró efecto más que con la más concentrada de todas ellas (M/5000) y aun en este caso, muy pequeño: entre un 6 y 10 % (valores extremos de 4

series). Recuérdese que la absorción se inhibía ya con florricina al M/50000 en un 15 a un 30 % y a M/5000 hasta un 50 a 60 %.

7. — *Fluoruro sódico y actividad fosfatásica alcalina.*

Se han ensayado concentraciones de FNa entre M/10 y M/50000. Los valores medios de 3 series se reúnen en la tabla VIII.

TABLA VIII

Inhibición de la fosfatasa alcalina intestinal por fluoruro sódico

Concentraciones de F Na	M/10	M/25	M/50	M/100	M/250	M/500	M/1000
Inhibición (%)	62,5	45	23	11	5	—	—

Para alcanzar inhibiciones apreciables hay que operar a concentración superior a M/250. Las perturbaciones de la absorción, aunque no se hacen aparentes hasta estas mismas concentraciones, son mucho más intensas: a M/100 la inhibición de fosfatasas es sólo de un 11 %, mientras la absorción se inhibe en un 80 %.

8. — *Amidón y actividad fosfatásica alcalina.*

Por último, hemos querido averiguar si el amidón ejercía algún efecto sobre las fosfatasas alcalinas. La presencia de la droga en concentraciones M/16000 a M/300000 no afecta en absoluto la actividad fosfatásica. No se utilizaron concentraciones superiores debido a que con ellas se da lugar a la formación de precipitados que interfieren en la determinación de fosfatasas.

Discusión

La inhibición de la absorción intestinal por la *florricina* ha sido señalada por muchos (1, 4, 24, 27, 28, 35, 37, 41, 45, 46); Wertheimer (41) con la técnica de Cori administraba 100 mg. de florricina en solución alcalina de azúcar y encontró una clara disminución de glucosa absorbida en las ratas normales. Yoshikawa (46) lo confirmó en asa intestinal de conejo. La influencia del pH en la absorción (Ponz, Larralde, 30) podía restar cierta validez a estas experiencias y así hemos preferido trabajar en soluciones más débiles pero en medio neutro, dentro del óptimo para la absorción.

Bogdanove (4) preparaba ratas florricinizadas por inyección subcutánea en días anteriores a la prueba, encontrando para la glucosa una inhibición del 38 %. Las inhibiciones que encontramos nosotros, administrando la florricina con la solución de azúcar a pH 7, son mucho mayores, alcanzando aún a concentración M/5000, un 50 a 60 %. La técnica de Sols y Ponz permite apreciar, además, el interesante hecho ya señalado en algunos ensayos previos (35) de que el efecto se limita al tiempo en que la florricina está en la solución, ya que, en la absorción siguiente, después del lavado del asa se normaliza completamente.

La florricina inhibe los procesos de fosforilación por extractos musculares (Lundsgaard, 23) y renales (Kalckar 8), así como los de defosforilación por la fosfatasa renal a concentraciones altas (M/50 a M/200). La inhibición de las fosfatasas alcalinas por la florricina había sido estudiada con resultados algo discrepantes (2, 3, 5, 6, 8, 13, 23, 26, 31, 33, 38). López Navarro encontró (22) fuertes inhibiciones de la fosfatasa alcalina intestinal a concentraciones de M/20 a M/500. Nosotros hemos observado que concentraciones de M/5000 a M/50000 que son eficaces inhibidoras de la absorción, no tienen ya efecto sobre la defosforilación del glicerofosfato por la fosfatasa intestinal. De aquí parece deducirse que el efecto de la florricina no debería atribuirse a su influencia sobre la fosfatasa alcalina de la mucosa.

El ácido monoyodoacético ejerce una acción inhibidora de la absorción intestinal y de la fosforilación de la glucosa (19, 20, 39, 44); sin embargo, no es realmente un directo inhibidor de la fosforilación y, por otra parte, tiene acción inespecífica (42, 43), alterando al epitelio (12). En nuestras experiencias aparece bien claro que su efecto es persistente, ya que, a diferencia de la florricina, las sucesivas absorciones, aun sin monoyodoacetato, presentan aún más fuerte disminución que en la prueba misma en que la droga está presente. El ácido monoyodoacético inhibe a la fosfatasa alcalina a concentraciones de M/2000 ó a M/500 (20 al 40 %), aunque a estas mismas concentraciones la perturbación de la absorción es mucho más intensa.

El fluoruro sódico es un eficaz inhibidor de la glucólisis anaerobia por su efecto sobre la enolasa y la fosfoglucomutasa, pero también inhibe a la fosfatasa alcalina (2, 5, 9, 14, 22, 32). Nosotros hemos visto que sobre la fosfatasa alcalina del intestino ejerce una franca inhibición sólo a concentraciones M/10 a M/100. Sobre la absorción intestinal presenta un efecto hasta cierto punto comparable al que provoca el ácido monoyodoacético: también aquí se altera persistentemente la permeabilidad selectiva del epitelio y aparecen los máximos de inhibición — aun después de arrastrar el fluoruro por lavado — en las absorciones ulteriores. Concentra-

ciones que inhiben fuertemente la absorción (aun inferiores a M/100) no son prácticamente eficaces frente a la fosfatasa alcalina, por lo que resulta improbable que el fluoruro ejerza un efecto a través de esta enzima.

Ninguna inhibición se ha encontrado con las concentraciones de amidón empleadas, ni sobre las fosfatasas alcalinas, ni sobre la absorción de glucosa. Si la hexoquinasa intestinal se inhibe por el amidón como se inhibe la del cerebro (7) habría que asignar poco valor a este fermento en la absorción selectiva de azúcares.

Podemos, pues, deducir de ello, que la absorción selectiva puede afectarse por sustancias que deben ejercer su acción sobre fermentos diferentes. En la consideración de la actividad celular relativa a la selectividad hay que atender a todo un sistema enzimático y no a una o dos enzimas. Mientras la florricina ejerce una acción inmediata y fácilmente reversible por lavado, el ácido monoyodoacético y el fluoruro sódico provocan más lentamente una alteración, inmetabólica al menos, del epitelio, que lo incapacita para ulteriores absorciones, quedando inhibida la selectividad de modo persistente. También podría deberse en los dos últimos casos a efectos tóxicos generales provocados por las drogas absorbidas. Las tres sustancias poseerán necesariamente un modo íntimo de acción diferente sobre las células de la mucosa. No puede todavía decirse sobre qué enzimas concretas ejerzan esta acción, aunque es muy probable que sean distintas de las fosfatasas alcalinas.

Sería interesante conocer si el amidón inhibe la glucólisis en la mucosa intestinal como lo hace en el cerebro, para juzgar de la importancia de este proceso en la absorción selectiva.

La máxima inhibición conseguida por las drogas empleadas no es mayor que la correspondiente a la supresión total de la selectividad, quedando siempre la absorción debida a la difusión, propia de los azúcares no selectivos. Esto habla en favor de que tales sustancias actúan directa o indirectamente sobre los procesos de selectividad, sin alterar las propiedades físicoquímicas de la membrana.

Resumen

Se ha ensayado el efecto del ácido monoyodoacético, florricina, fluoruro sódico y amidón sobre la absorción de glucosa (administrando las drogas en las mismas soluciones de azúcar a absorber) y sobre la actividad de la fosfatasa alcalina intestinal. La florricina tiene efecto rápido y reversible sobre la absorción, provocando fuertes inhibiciones aun a concentraciones muy débiles. El ácido monoyodoacético y el fluoruro sódico actúan mucho más lentamente e inhiben la capacidad absorbente del epitelio de modo duradero. Las tres sustancias deben tener diferente modo de acción sobre las células. El estudio comparado de las concentraciones eficaces para la inhibición de la selectividad y de las fosfatasas hace poco probable que ejerzan su efecto por intermedio de su acción sobre las fosfatasas alcali-

nas de la mucosa. Tampoco parece que modifique las condiciones físico-químicas de la permeabilidad de las células, ya que la absorción, aun en los casos de máxima inhibición no baja de lo que corresponde a la absorción de azúcares no selectivos. El efecto debe recaer sobre procesos enzimáticos distintos que han de entrar en juego en el mecanismo de la selectividad de absorción.

Con amidón no se ha encontrado inhibición sobre la absorción ni sobre las fosfatasas.

Summary

The effect of monoiodoacetic acid (MIA), phloridzin (Flor), FNa and Methadone (Amd) on intestinal absorption of glucose in rats is studied with Sols and Ponz's method of successive absorptions. The drugs were dissolved in the solutions to be absorbed. The effect of these drugs on the alkaline phosphatase activity of autolyzed intestine on glycerophosphate has also been observed. Flor has a rapid and reversible effect on absorption (M/50.000) causing strong inhibitions even at very weak concentrations (25 per cent to M/50.000). MIA and FNa act much slower and inhibit the absorbing capacity of epithelium in a more lasting way. MIA, M/500, inhibits 75 per cent and M/2.500, 30 per cent. FNa M/100 inhibits 80 per cent and M/250 only 15-20 per cent. The effect of MIA and FNa persists for two or more hours after the intestine has been well washed.

Flor at concentrations between M/5.000 and M/250.000 has no effect on intestinal alkaline phosphatase (only very slightly at M/5.000); MIA between M/500 and M/2.000 inhibits it 20 and 40 per cent respectively. FNa is efficacious only at concentration of M/100 (inhibition 10 per cent) and superior ones (M/10, 60 per cent).

It is improbable that these three drugs effect selective absorption through their action on the alkaline phosphatases. Neither do they seem to modify the behaviour of the cellular membrane respecting simple diffusion as absorption even in cases of maximum inhibition does not fall below to what corresponds to nonselective sugars. The effect must be on different enzymatic processes which come into play in the mechanism of selective absorption.

Amd has resulted inefficacious on selective absorption and on alkaline phosphatases.

Bibliografía

- (1) ALTHAUSEN, T. L. y STOCKHOLM, M. : *Am. J. Physiol.*, 123, 577, 1938.
- (2) BACCARI, V. : *Boll. Soc. H. Biol. Sper.*, 20, 398, 1945.
- (3) BECK, L. V. : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 49, 435, 1942.
- (4) BOGDANOV, E. M. y BARKER, S. B. : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 75, 77, 1950.
- (5) CEDRANGOLO, F. : *Arch. Soc. Biol.*, 21, 337, 1935.
- (6) FANTL, P. y ROME, M. N. : *Austral. J. Exp. Biol.*, 23, 21, 1945.
- (7) GREIG, M. E. : *Arch. Biochem.*, 17, 129, 1948.
- (8) KALČEK, H. : *Nature*, 138, 280, 1936.
- (9) KAY, H. D. : *Biochem. J.*, 22, 855, 1928.

- (10) KJERULF-JENSEN, K. : *Acta Physiol. Scand.*, **4**, 225, 1942.
- (11) KJERULF-JENSEN, K. y LUNDGAARD, E. : *Hoppe-Seylers Z.*, **266**, 217, 1940.
- (12) KLINGSHOFFER, K. Q. : *J. Biol. Chem.*, **126**, 201, 1938.
- (13) KRITZLER, R. A., y GUTMAN, A. B. : *Am. J. Physiol.*, **134**, 94, 1941.
- (14) KUTSCHER, W. y WÜST, H. : *Z. Physiol. Chem.*, **273**, 235, 1942.
- (15) LARRALDE, J. : *R. esp. Fisiol.*, **4**, 333, 1948.
- (16) LARRALDE, J. : *Anales R. Acad. Farm.*, **6**, 859, 1950.
- (17) LARRALDE, J. : Influencia de la aloxana sobre la absorción intestinal de glucosa (no publicado).
- (18) LARRALDE, J. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **5**, 38, 1949.
- (19) LASZT, L. : *Biochem. Z.*, **276**, 44, 1935.
- (20) LASZT, L. : *Nature*, **144**, 244, 1939.
- (21) LASZT, L. y SÜLLMANN, H. : *Biochem. Z.*, **278**, 401, 1935.
- (22) LÓPEZ-NAVARRO, J. : *R. esp. Fisiol.*, **2**, 211, 1946.
- (23) LUNDGAARD, E. : *Biochem. Z.*, **264**, 209, 1933.
- (24) LUNDGAARD, E. : *Biochem. Z.*, **264**, 221, 1933.
- (25) LUNDGAARD, E. : *Hoppe-Seylers Z.*, **261**, 193, 1939.
- (26) MARSH, J. B. y DRABKIN, D. L. : *J. Biol. Chem.*, **168**, 61, 1947.
- (27) NAKAZAWA, F., TOHOKU : *J. exp. Med.*, **3**, 288, 1922.
- (28) OHNELL, R. y HOBER, R. : *J. Cell. comp. Physiol.*, **13**, 161, 1939.
- (29) PONZ, F. y LARRALDE, J. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 271, 1950.
- (30) PONZ, F. y LARRALDE, J. : *Nature*, **168**, 912, 1951.
- (31) RABATÉ, J. y COURTOIS, J. : *C. R. Soc. Biol.*, **134**, 468, 1940.
- (32) ROSSI, A. : *Boll. Soc. H. Biol. Sper.*, **8**, 714, 1933.
- (33) SAVIANO, M. y BACCARI, V. : *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, **22**, 569, 1946.
- (34) SOLS, A. : *R. esp. Fisiol.*, **5**, 149, 1949.
- (35) SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.* **2**, 283, 1946.
- (36) SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.* **3**, 207, 1947.
- (37) SOULAIRAC, A. : *Ann. d'Endocrinologie*, **8**, 377, 1947.
- (38) SWANSON, M. A. : *J. Biol. Chem.*, **184**, 647, 1950.
- (39) VERZÁR, F. y LASZT, L. : *Biochem. Z.*, **276**, 28, 1935. *Pflüger's Arch.*, **237**, 483, 1936.
- (40) VIDAL-SIVILLA, S., SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 195, 1950.
- (41) WERTHEIMER, E. : *Pflüger's Arch.*, **233**, 514, 1933.
- (42) WESTENBRINK, H. G. K. : *Arch. Neerl. Physiol.*, **21**, 433, 1936.
- (43) WESTENBRINK, H. G. K. : *Ned. Tijdschrift voor Geneeskunde*, **93**, 27, 1949.
- (44) WILBRANDT, W. y LASZT, L. : *Biochem. Z.*, **259**, 398, 1933.
- (45) WILSON, R. H. : *J. Biol. Chem.*, **97**, 497, 1932.
- (46) YOSHIKAWA, T. : *Sci-i-kwai Med. J.*, **54**, 75, 1935.