

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

Inhibición de la absorción intestinal de glucosa por el cerio

por **Marcelino Lluch(*)** y **Francisco Ponz**

(Recibido para publicar el 18 de junio de 1953)

La acción del cloruro de cerio sobre la absorción selectiva de azúcares fué señalada por Laszt (1, 2). Laszt y Dalla Torre habían demostrado que durante la absorción de azúcares tenía lugar una secreción de fosfato inorgánico a la luz intestinal, que tenía características en relación con la naturaleza del azúcar que se estuviera absorbiendo (3). Laszt (2) atribuía el hecho a que el fosfato segregado se utilizaba, al menos en parte, para la absorción de los azúcares selectivos y para demostrarlo estudió el efecto de la adición del cloruro de cerio a la solución de azúcar a absorber, con lo que se precipitaría el fosfato, impidiéndose su reabsorción y utilización para fosforilizar los azúcares. Efectivamente, la adición de cloruro de cerio precipitaba siempre todo el fosfato e inhibía la absorción de glucosa en casi un 50 %, mientras que la absorción de xilosa y manosa — azúcares no selectivos — no se influía.

Esta inhibición de la absorción selectiva de monosacáridos, fué comprobada por Sols y uno de nosotros (10), tanto con la técnica de absorción utilizada por Laszt, como con la de Sols y Ponz (11) de absorciones sucesivas. En ratas, con esta última técnica, la presencia de cloruro de cerio al 0'25 % inhibe la absorción de glucosa variablemente con un promedio aproximado del 50 %; en perros, la inhibición era menor y por término medio

*) Con una Beca del «Patronato Juan de la Cierva».

de un 15 a 25 %. Allí hacíamos también la observación de que la adición de cerio no reducía la absorción de glucosa hasta el punto de igualar a la de xilosa. Las absorciones de glucosa sin cerio que seguían, después de un buen lavado del asa, a las de glucosa con cerio, tendían a la normalidad aunque no se restaurase totalmente la absorción.

Sin embargo, la interpretación de que el cerio inhiba la absorción por su efecto precipitante de los fosfatos no estaba demostrado ni nos parecía muy probable, dado que de una parte, las células de la mucosa podían recibir fosfato de la sangre, y de otra, la formación de ésteres fosfóricos de los azúcares selectivos durante su absorción, no debe hacerse directamente con fosfato inorgánico por dificultades termodinámicas. Además, el hecho que llevamos comprobando en algunos trabajos (4, 5, 6, 8) de que las acciones que inhiben de algún modo el metabolismo de las células de la mucosa intestinal, inhiben asimismo la absorción de los azúcares selectivos, permitía pensar que el efecto del cerio se debiera a una alteración de tal metabolismo a través del bloqueo de procesos enzimáticos, sin llegar a provocar una alteración histológica de la mucosa (2).

En el presente trabajo estudiamos con más detenimiento el efecto del cloruro de cerio y su relación con los fosfatos.

Material y métodos

Hemos seguido en ratas el método de absorciones sucesivas de Sols y Ponz (11) con asas de unos 20 cm. de longitud (entre 17 y 23 cm.), 10 c.c. de solución a absorber, presión de repleción de 12 cm. de agua y tiempo de absorción de treinta minutos. La temperatura rectal de los animales se mantenía durante las experiencias con oscilaciones no mayores de $\pm 0.2^\circ$ C.

La glucosa quedaba siempre al 5.4 %, disolviéndola en agua destilada y el cerio quedaba presente en algunas de las soluciones de glucosa a las concentraciones que en cada experiencia se detallan, comprendidas entre 6×10^{-5} y 6×10^{-2} M.

La determinación de glucosa se ha hecho según una modificación al método de Somogy (9).

Resultados

1. Concentraciones eficaces de cloruro de cerio

Hemos estudiado inicialmente las concentraciones de cloruro de cerio eficaces sobre la absorción intestinal de glucosa. Se hacían cuatro absorciones sucesivas en la misma asa de intestino de

cada animal. En la primera, se utilizaba la solución de glucosa sola; en la segunda, solución de glucosa en presencia de cloruro de cerio a las concentraciones que se indican en las tablas; en la tercera, después de un buen lavado del asa con suero fisiológico, de nuevo, solución de glucosa pura; y en la cuarta y última, se hacía otra vez con solución de glucosa y cloruro de cerio en igual concentración que en la segunda.

Los resultados aparecen en la tabla I expresados en micromoles de glucosa absorbidos por centímetros de longitud fisiológica (12) de intestino. Junto a los valores de azúcar absorbido figuran las correspondientes inhibiciones (en %) respecto a la primera absorción considerada como normal. Inhibiciones inferiores al 10 % no aparecen en la tabla porque no se les valora.

TABLA I

Absorción intestinal de glucosa (5'4 %) en la rata, en presencia de cloruro de cerio en la solución a absorber.

Peso gr.	Long. oso cm.	[Cl ₂ Ce]	Glucosa absorbida (μMc/m)							
			1.ª Gluc. Abs.	2.ª Gluc.+Ce Abs.	Inhib. %	3.ª Gluc. Abs.	Inhib. %	4.ª Gluc.+Ce Abs.	Inhib. %	
100	19	6 × 10 ⁻²	3'5	0'4	89'42	1'1	10'00	0'3	91'71	
90	19	1 × 10 ⁻²	2'7	1'0	61'93	1'0	61'93	0'6	78'35	
182	19	1 × 10 ⁻²	4'2	1'8	57'89	1'9	55'50	0'5	86'83	
93	22	6 × 10 ⁻³	2'1	1'2	44'54	1'3	39'04	0'6	71'45	
120	18	6 × 10 ⁻³	2'7	1'5	43'29	1'7	35'82	0'8	71'26	
175	21	3 × 10 ⁻³	3'8	2'8	26'31	3'0	21'05	1'8	52'63	
130	23	3 × 10 ⁻³	3'8	2'9	23'68	2'8	26'31	1'8	52'63	
150	20	1 × 10 ⁻³	4'4	3'1	29'80	3'3	25'00	2'5	43'18	
141	20	1 × 10 ⁻³	3'9	3'0	23'08	3'0	23'08	2'1	46'15	
210	17	6 × 10 ⁻⁴	5'1	4'4	13'72	4'6	9'81	3'3	35'49	
217	23	6 × 10 ⁻⁴	5'9	5'2	11'86	5'1	13'56	4'1	30'51	
168	17	1 × 10 ⁻¹	4'6	4'1	10'86	4'3	—	3'3	28'26	
150	19	1 × 10 ⁻¹	4'5	4'1	—	4'2	—	3'4	24'44	
107	21	6 × 10 ⁻⁵	3'0	2'9	—	2'9	—	2'9	—	
105	21	6 × 10 ⁻⁵	3'0	2'9	—	3'1	—	2'9	—	
105	20	6 × 10 ⁻⁵	4'1	4'0	—	4'1	—	4'1	—	

Las concentraciones de cloruro de cerio superiores a 6 × 10⁻² M, resultan francamente tóxicas para la rata; e incluso la de 6 × 10⁻² M producía la muerte del animal al final de la experiencia. Las concentraciones 10⁻² M e inferiores son bien toleradas.

Como se ve en la tabla I, el cloruro de cerio a concentraciones 1 × 10⁻¹ M y superiores inhibe la absorción de glucosa en tanto mayor grado cuanto mayor sea la concentración. La concentración 1 × 10⁻² M inhibe aproximadamente un 60 % (1.ª absorción

con Ce) y un 82 % (2.^a absorción con Ce); la 1×10^{-3} M, un 25 % y un 45, respectivamente; la 1×10^{-1} M apenas inhibe en la primera absorción con ceric y, en cambio, lo hace claramente (un 26 %) en la segunda absorción con cerio; la concentración de 6×10^{-5} M es ya ineficaz.

Las inhibiciones son, pues, mayores en la cuarta absorción en que, por segunda vez, está presente el cloruro de cerio.

La tercera absorción, sin cloruro de cerio y después de lavar el asa con unos 120 c.c. de suero fisiológico, no alcanza, con mucho, la normalidad: mejora generalmente la absorción pero muy débilmente.

2. Efecto local del cloruro de cerio

Para discriminar en lo posible si el efecto del cloruro de cerio era local sobre el epitelio absorbente o se debía a un efecto preferentemente central por su posible paso a la circulación general, se hicieron experiencias en las que se trabaja en cada animal con dos asas independientes de intestino. En la proximal se practican las cuatro absorciones sucesivas con solución de glucosa pura al 5.4 %. En la distal, se hacen también y simultáneamente con las otras, cuatro absorciones sucesivas, poniendo en la primera y tercera suero fisiológico y en la segunda y cuarta cloruro de cerio a concentración 6×10^{-3} M en suero fisiológico. De este modo pasaría aproximadamente la misma cantidad de cloruro de cerio que cuando esta substancia estaba presente en la misma solución de glucosa a absorber.

En la tabla II se expresan los resultados con dos animales y pone de manifiesto la no influencia del cloruro de cerio puesto en un asa intestinal sobre la absorción de glucosa por otra asa distinta.

TABLA II

Absorción intestinal de glucosa (5.4%) en la rata, simultáneamente a la presencia de cloruro de cerio en esa intestinal distinta.

Peso gr.	Long. asa cm.	[Cl ₃ Ce]	Glucosa absorbida (μ M/cm.)			
			1. ^a Gluc. Abs.	2. ^a Gluc. Abs. inhi. %	3. ^a Gluc. Abs. Inhi. %	4. ^a Gluc. Abs. Inhi. %
169	12	6×10^{-3}	3'7	3'4 —	3'7 —	3'6 —
135	23	6×10^{-3}	3'5	3'4 —	3'5 —	3'5 —

3. El efecto del cerio y los fosfatos

Se han practicado, por último, otras experiencias para dilucidar si la acción del cerio podía explicarse simplemente a través de su acción precipitante de los fosfatos segregados por la mucosa.

En algunos animales se hicieron tres absorciones sucesivas: la primera de glucosa sola y la segunda de glucosa en presencia de cloruro de cerio al 6×10^{-3} M; después de esta última se arrasaba bien el contenido del asa con unos 120 c.c. de suero fisiológico, cantidad que parecía suficiente para eliminar de la luz intestinal todo el cerio residual; en la tercera absorción se introducía en el asa solución de glucosa a la que se había adicionado mezcla de fosfatos ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ y PO_4HNa_2 según Sörensen) para pH 7 a la concentración 1×10^{-2} M, cantidad que aseguraba plenamente la presencia de fosfato inorgánico no precipitado.

En la tabla III se ve, en los dos casos investigados, cómo la tercera absorción tampoco es normal y no se aprecia mejoría de absorción superior a la ya encontrada sin la adición de fosfatos. Compárese, al efecto, los datos de esta tabla III con los de igual concentración de cloruro de cerio en la tabla I.

TABLA III

Absorción intestinal de glucosa (5,4%) en ratas, en presencia de cloruro de cerio en la 2.ª absorción. Adición de fosfatos (pH 7) 1×10^{-2} M, en la 3.ª absorción.

Peso gr.	Long. asa cm.	[Cl ₂ Ce]	Glucosa absorbida. (μM/cm).		
			1.ª Gluc. Abs.	2.ª Gluc.+Ce Abs. Inhi. %	3.ª Gluc.+Fost. Abs. Inhi. %
160	17	6×10^{-3}	4'8	2'4 50'00	2'8 41'66
126	20	6×10^{-3}	4'9	4'9 42'86	3'0 38'77

Discusión

El cloruro de cerio presenta una acción inhibitoria de la absorción intestinal de glucosa que alcanza con dosis próximas a la letalidad valores del 90 %, sin que llegue a suprimirla totalmente. El efecto del cerio no puede atribuirse a una acción tóxica central, ya que la presencia de cloruro de cerio a concentración 6×10^{-3} M en un asa distinta a aquella en que se está absorbiendo la glucosa, no produce efecto alguno.

El lavado abundante del asa después de una absorción de glucosa con cerio no basta para restaurar la capacidad absorbente del epitelio, persistiendo la inhibición casi en el mismo grado que en la absorción anterior. Cabe pensar en que el cerio hubiera quedado

adherido a la superficie de las vellosidades y que no hubiera sido exhaustivo el lavado realizado. De todas formas, las experiencias de la tabla III demuestran que al adicionar un exceso de fosfato más que suficiente, para precipitar ese cerio no arrastrado, no se restaura tampoco la absorción.

La interpretación de Laszt a esta inhibición por el cerio, de que actuaría precipitando el fosfato inorgánico segregado e impidiendo con ello la reabsorción de dicho fosfato que él juzga importante para la selectividad de absorción de los azúcares, no parece adecuada, puesto que, en las terceras absorciones (tabla III) se adicionan fosfatos en concentración suficiente para precipitar el cloruro de cerio a la concentración 6×10^{-3} M en que se ha utilizado en la absorción anterior y que aseguran, por tanto, la supresión de todo el ión cerio libre en la luz intestinal y el quedar aún una riqueza de fosfato en el medio que debería condicionar una absorción normal de glucosa, lo que no ocurre en absoluto.

La adición de fosfatos en mezcla para pH 7, como hemos demostrado en otra ocasión (7) no influye de por sí en la absorción de glucosa.

Si el efecto del cerio parece local, periférico, sobre el mismo epitelio en que está presente y, por otra parte, no es reversible por lavado ni por su precipitación por fosfatos, ha de atribuirse a una acción de dicho catión en el interior de las células de la mucosa, o al menos, a nivel de la membrana celular.

El asa que ha tenido presente cloruro de cerio, presenta por transparencia un cierto tono blancuzco, claramente distinguible del normal. Hemos abierto el asa longitudinalmente quedando al descubierto la mucosa de color mucho más blanco que la mucosa normal. Suspendiendo esta mucosa en suero fisiológico y lavando repetidamente con él, apenas se separa cerio (determinación espectrográfica)*; suspendido en ácido clorhídrico 0'5 N, se disuelve una parte notable de cerio, pero todavía queda otra importante fracción que se libera con ácido clorhídrico concentrado y caliente. Precipitados referibles a fosfato de cerio no se manifestaban, por lo que, de haberlos, corresponderían a muy exigua parte del cerio residual.

Todo esto nos hace pensar en que el cerio está en su casi totalidad fijado en la mucosa. El paso de cerio a la sangre es en todo caso despreciable a las concentraciones 6×10^{-3} M e inferiores, pues no se ha observado el elemento espectrográficamente en las cenizas. El complejo que forma el cerio en la mucosa debe ser bastante estable, dado que el lavado de la mucosa con ácido

* Agradecemos al doctor José M. Codina, del Laboratorio de Física de la Facultad de Ciencias, las determinaciones espectrográficas de cerio.

clorhídrico 0'5 N deja todavía buena parte del mismo. Tales complejos pueden formarse con las proteínas, al igual que hacen otros metales pesados y la inhibición observada de la absorción de glucosa puede referirse a la inhibición de enzimas, implicadas en los procesos metabólicos relacionados con la selectividad.

Resumen

Se estudia con la técnica de absorciones sucesivas de SOLS y PONZ, en la rata, la acción del cloruro de cerio (entre 6×10^{-2} M y 6×10^{-5} M) sobre la absorción intestinal de glucosa. El Cl_2Ce inhibe la absorción desde concentraciones 1×10^{-4} M. La de 1×10^{-2} M lo hace en un 60 % aproximadamente. El abundante lavado del asa intestinal con suero fisiológico, no suprime la inhibición en la absorción posterior de glucosa sin cerio y la última absorción, otra vez con cerio, hay inhibiciones mayores (con 1×10^{-2} M, un 82 %). El efecto del cerio es local sobre la mucosa, no teniendo efecto su presencia en asa intestinal distinta de aquélla por la que se absorbe la glucosa. La acción no puede explicarse simplemente por la precipitación de fosfato inorgánico segregado a la luz intestinal durante la absorción, según se desprende de la adición de un exceso de fosfatos. Se demuestra la fijación del cerio por la mucosa y se sugiere que el mecanismo de inhibición puede ser la formación de complejos con proteínas, probablemente enzimáticas, que condicionan la absorción selectiva.

Summary

The action of the cerium chloride (between 6×10^{-2} M and 6×10^{-5} M) on the intestinal absorption of glucose is studied on the rat by means of SOLS and PONZ's technique of successive absorptions. Cl_2Ce inhibits absorption at concentration from 1×10^{-4} M onwards. That of 1×10^{-2} M does so in about 60 %. The plentiful washing of the intestinal loop with physiologic serum does not suppress inhibition in the following absorption of glucose without cerium and in the last absorption, with cerium again, there are greater inhibitions (a 82 %, with 1×10^{-2} M). The effect of cerium upon the mucosa is a local one and the former is never present in any other intestinal loop than that through which glucose is absorbed. This action cannot be accounted for merely by the precipitation of inorganic phosphate secreted into the intestine during absorption, as is shown by the addition of an excessive amount of phosphates. Cerium fixation by the mucosa is demonstrated and it is suggested that the inhibition mechanism may be due to the formation of protein complexes, probably enzymatic, which rule the selective absorption.

Bibliografía

- (1) LASZT, L. : *Verhand. Ver. Schweiz, Physiol.*, Jan., 1941.
- (2) LASZT, L. : *Schweiz. Mediz. Wochenschr.*, **72**, 193. 1942.
- (3) LASZT, L. y DELLA TORRE, L. : *Schweiz. Mediz. Wochenschr.*, 1416. 1941.
- (4) PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **8**, 217. 1952.
- (5) PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **8**, 261. 1952.

- (6) PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **9** (en prensa), 1953.
- (7) PONZ, F y LARRALDE, J. : *Nature*, **168**, 912. 1951.
- (8) PONZ, F y LARRALDE, J. : *R. esp. Fisiol.*, **8**, 71. 1952.
- (9) SOLS, A. : *R. esp. Fisiol.*, **5**, 149. 1949.
- (10) SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **2**, 283. 1946.
- (11) SOLS, A y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **3**, 207. 1947.
- (12) VIDAL-SIVILLA, S., SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 195. 1950.