

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

## Paso de compuestos de fósforo de la mucosa a la luz del intestino durante la absorción de azúcares

F. Ponz y M. R. Queraltó \*

(Recibido para publicar el 6 de mayo de 1955)

Desde que se sugirió la posible fosforilación de los azúcares como explicación de su absorción selectiva por el intestino, se ha venido estudiando la capacidad de fosforilizar de la mucosa y las variaciones de concentración de los compuestos fosfóricos de la mucosa inducidas por la absorción.

En ratas mantenidas en ayuno de 24 horas, encuentra Lundsgaard (13) una distribución del fósforo ácido soluble en 20 % de fósforo inorgánico, 35 % de fósforo orgánico fácilmente hidrolizable y 37 % del difícilmente hidrolizable. Durante la absorción de glucosa, el fósforo inorgánico disminuye proporcionalmente y se aumenta el fósforo orgánico fácilmente hidrolizable, no variando el fósforo total. El contenido de glucógeno en la mucosa no varía durante la absorción

Kjerulf-Jensen y Lundsgaard (8) encontraron también que durante la absorción de fructosa, aumentan los ésteres fosfóricos fácilmente hidrolizables en la mucosa, indicando tendría lugar una fosforilación y una defosforilación. Kjerulf-Jensen (7) estudia las variaciones de concentración de los ésteres fosfóricos de azúcares durante la absorción de fructosa, glucosa y galactosa, demostrando que aumenta su concentración. Durante la absorción de glucosa, se acumula glucosa-6-fosfato, aunque hay simultánea formación de glucosa-1-fosfato en pequeña pro-

\* La parte experimental de este trabajo corresponde a la tesis doctoral de M. R. Queraltó leída en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Barcelona, en noviembre de 1954.

porción; también se forma galactosa fosfato al absorberse galactosa, y asimismo aumenta el fructosa-6-fosfato al absorberse fructosa. Refiere igualmente un notable consumo de azúcar por el intestino durante la absorción.

Por otra parte, la fosfatasa alcalina está especialmente acumulada en los bordes en cepillo o en chapa de los epitelios tubular e intestinal (6, 2, 4), aun cuando también se encuentra en otras regiones celulares. Se ha pensado en que la fosforilación podría ocurrir en la misma membrana celular. Los trabajos de Meyerhoff y Green demuestran una acción transfosfatásica de las fosfatasas alcalinas de intestino transfiriendo fosfato desde compuestos con enlaces fosfóricos ricos en energía a hexosas, haciendo particularmente posible la hipótesis de que la misma fosfatasa alcalina pueda catalizar la fosforilación de las hexosas al penetrar en la membrana. Otra posibilidad es la de que la fosforilación corra a cargo de la hexoquinasa de la mucosa (1). Probablemente entre el ATP, que es el donador de fosfatos más verosímil, y la glucosa, se pasaría, según Rosenberg y Wilbrandt (18), por una primera formación de glucosa metafosfato.

En relación con estas transformaciones metabólicas en superficie o en el interior de la célula, implicando procesos de fosfo y defosforilación, tienen interés las observaciones de que por el epitelio intestinal puede tener lugar una salida de distintos compuestos de fósforo. Las antiguas experiencias de Clementi (3) y Sperry y Angevine (21), habían revelado la presencia de fosfolípidos en la secreción intestinal. Más recientemente Sols y Ponz (20) demostraron también que durante la absorción de glucosa y xilosa, aparece en el contenido intestinal una fracción de fósforo inorgánico fácilmente hidrolizable, que puede espontáneamente ser hidrolizado fuera del organismo por la propia fosfatasa segregada.

Es bien conocida, por otra parte, la excreción de notable cantidad de fósforo endógeno a la luz del intestino, así como la posibilidad de reabsorción de una parte del excretado. La presencia de fosfato inorgánico en la luz del intestino da lugar a una salida de fósforo endógeno, estableciéndose, probablemente, un intercambio de iones a través del intestino delgado.

Laszt y Dalla Torre (9) demostraron que durante la absorción de monosacáridos tiene lugar, en el intestino delgado, una secreción de fosfato inorgánico a la luz intestinal. El curso de la secreción en el tiempo variaba según los azúcares. Comparando las cantidades de fosfato segregadas a los 15 y 60 minutos con los distintos azúcares, obtenía una serie que coincidía bastante bien con la de selectividad. Esta secreción no se

producía con ClNa, urea, glicocola, dulcita y sorbita. Ellos interpretaban el hecho como debido al escaso fosfato que habría quedado libre en el curso de los procesos de fosforilación, o a que el fósforo segregado se reabsorbería para formar con las hexosas ésteres hexosafosfóricos en la célula epitelial, de acuerdo con su hipótesis sobre el mecanismo de la absorción selectiva. Precipitando el fosfato por adición del cloruro de cerio a la solución de glucosa a absorber, se producía (Laszt, 10) una fuerte inhibición de la absorción selectiva, que él explicaba considerando que el fosfato segregado sería necesario, al reabsorberse, para la fosforilación de las hexosas.

Los iones ioduro y sulfuro (Laszt, 11), que inhiben la reabsorción de fosfato, inhiben también la absorción de glucosa.

Esta secreción de fosfato inorgánico durante la absorción de azúcares ha sido también confirmada por López Navarro (12) y Sols y Ponz (20).

Hemos querido analizar con más detenimiento la naturaleza del fósforo segregado durante la absorción de azúcares, investigando qué fracciones de fósforo pasaban a la luz intestinal, así como intentar seguir las variaciones cuantitativas que presentaban estas distintas fracciones durante diferentes tiempos de absorción y en condiciones experimentales distintas. Parecía previsible que los cambios metabólicos inducidos en las células de la mucosa intestinal por la presencia de azúcares distintos, de sustancias no azúcares y de inhibidores de la absorción selectiva, deberían también afectar el curso y cuantía de la secreción de estos distintos compuestos de fósforo por el epitelio.

Se ha analizado el fósforo presente en la luz intestinal durante la absorción de glucosa hipotónica, isotónica e hipertónica; luego se investigó la secreción de fosfatos durante la absorción de arabinosa y ClNa isotónico, así como durante la absorción de glicocola, escogiendo estas dos últimas sustancias como tipo de no azúcares. Por último, observamos la duración de la respuesta secretora ante el estímulo químico de la presencia de glucosa, y las variaciones que se presentaban en la cesión de estos compuestos de fósforo bajo el efecto de la florricina, el uranilo y el ácido mono-yodo-acético, todos ellos conocidos inhibidores de la absorción de glucosa.

## Métodos

### 1. — DETERMINACIÓN DEL FÓSFORO

Como las concentraciones de fósforo previsible en la secreción intestinal eran relativamente bajas e interesaba, por otra

parte, valorar con la mayor sensibilidad las diferencias entre las diversas fracciones en las distintas condiciones experimentales, era preciso escoger una técnica aplicable que reuniera las características de sensibilidad, exactitud y amplitud de campo de concentraciones exigidas para nuestras experiencias.

A este fin hemos realizado un estudio crítico experimental de la aplicabilidad de los distintos métodos, ensayando las ventajas e inconvenientes de la reducción del complejo fosfomolibdico con  $\text{Cl}_2\text{Sn}$ , con Amidol (clorhidrato de diamidofenol. Final Agfa) y con el reactivo de Fiske Subbarow (ácido 1, 2, 4-amino-naftolsulfónico).

De ellos concluimos que los reductores Amidol (Final Agfa) y el de Fiske Subbarow, aunque dan coloraciones menos intensas que el  $\text{Cl}_2\text{Sn}$ , eran mucho más convenientes para nuestro caso, dado que siguen la ley de Lambert-Beer dentro de límites mucho más extensos, tienen buena estabilidad de color después de mantener los tubos con el reductor 15 minutos a  $37^\circ$ , y producen reducciones más lentas y regulares con disminución de errores por diferencias en el mezclado del reductor con la solución.

#### *Técnica adoptada*

Las líneas generales del método son las de Fiske y Subbarow (5) para la determinación de las distintas fracciones en sangre, aunque se han cambiado el reductor y las cantidades del problema y hay algunas variaciones en la concentración de reactivos.

Se ha tratado de reducir al mínimo el número de reactivos necesarios y de hacer que todos sirvieran para la determinación de las distintas fracciones de fósforo; así, en lugar de preparar tres soluciones de molibdato, se ha preparado solamente la que corresponde al molibdato III de Fiske y Subbarow, adicionando aparte el ácido sulfúrico. Las concentraciones finales de ácido sulfúrico son poco distintas de las utilizadas en el método de Fiske y Subbarow y se ha comprobado eran adecuadas para la variación de fósforo en sus distintas formas entre límites de concentración bastante extensos.

#### *Soluciones necesarias.*

1.  $\text{SO}_4\text{H}_2$ . — 450 c. c. de ácido sulfúrico concentrado añadidos a 650 c. c. de agua.
2. Molibdato amónico. — 2'5 % en agua. Tan pronto como

aparezca en esta solución un considerable sedimento (trimolibdato amónico), debe ser renovada.

3. Acido tricloroacético al 30 %.

4. Fosfato «standard». — a) Solución madre: 1'2 gr de fósforo por mil c. c. (5'2714 gr. de  $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$  Merck p. a. desecado sobre  $\text{SO}_4\text{H}_2$ , con 4 c. c. de  $\text{SO}_4\text{H}_2$ ). Se conserva indefinidamente. b) Soluciones tipo de 5 y 10 mg de fósforo por 10 c. c. preparadas a partir de la solución madre y conservadas con cloroformo.

5. Solución de reductor. — En una solución de 2'5 gr. de sulfito sódico en 50 c. c. de agua se disuelven 0'25 gr. de amidol (Final Agfa). O con ácido 1-2-4 amino naftol sulfónico preparado según Fiske y Subbarow.

6. Alcohol-éter. — Mezcla de 90 partes de alcohol absoluto y 10 partes de éter.

7. Acido nítrico concentrado.

#### *Problemas.*

El contenido intestinal era arrastrado con suero fisiológico a un matraz aforado de 20 c. c. enrasando con el mismo suero. Después de agitar bien, se tomaban 10 c. c. para determinar el fósforo total ácido soluble y el fósforo inorgánico. Otros 2 c. c. se utilizaban para determinar el fósforo total y 1 c. c. para el fósforo lipídico.

#### *Determinación del fósforo inorgánico.*

Se verificaba inmediatamente. A los 10 c. c. de problema se añadían 2 c. c. de tricloroacético al 30 % filtrando por algodón después de unos minutos. A 2 c. c. de filtrado se añadían 1 c. c. de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  5N, completando hasta 8 c. c. con agua.

Dada la escasa cantidad de fósforo presente en el contenido intestinal, a la que correspondían coloraciones poco valorables con el reductor empleado, adoptamos la resolución de agregar en todas las determinaciones 10  $\mu$  de fósforo inorgánico en forma de 0'1 c. c. de solución fosfato «standard» 10 mg. %; una vez adicionada esta cantidad de fósforo, se agrega 1 c. c. de solución molibdato y después 1 c. c. de solución reductor, llevando los tubos al baño a 37° y haciendo la lectura con fotocolorímetro después de 15 minutos.

Junto con los tubos problema (dos muestras para cada determinación), se preparaban otros con soluciones «standard» como sigue: En cada uno de dos tubos de ensayo se vierte 0'1 c. c. de solución «standard» de fósforo de 10 mg. % y en otros dos sólo 0'05 c. c. de igual solución. A todos se agrega 1 c. c. de

SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> y agua hasta 8 c. c. Luego se añade 1 c. c. de solución molibdato y 1 c. c. de reductor. La adición de molibdato y reductor a los problemas y a los tubos se hace a la vez, de modo que desde la adición de reductor hasta que se hace la lectura fotocolorimétrica en cada tubo, pasa exactamente el mismo tiempo.

*Cálculos.*—Siendo  $a_s$ ,  $a_{2s}$  y  $a_p$  las lecturas fotocolorimétricas en densidades ópticas correspondientes a los tipos con 5 y 10  $\gamma$  y al tubo problema, se tiene que la concentración de esta última

$C_p$  es :  $\frac{C_s \times a_p}{a_s}$  en el caso de que siga la ley de Beer. En caso

de que aparentemente haya desviación, que es lo más corriente, puede sencillamente calcularse  $C_p$  por representación gráfica, tomando  $a$  en ordenadas y  $C$  en abscisas y trazando en papel milimetrado la recta que une  $a_s$  y  $a_{2s}$  correspondientes a  $C_s$  y  $C_{2s}$ , y deducir el valor de  $C_p$  correspondiente a  $a_p$  en dicha recta.

El valor de  $C_p$  obtenido considerando  $C_s = 1$ , significa que, en las soluciones que se comparan, la relación de concentraciones es  $C_p$ .

La cantidad de fósforo (microgramos) en el tubo problema será  $C_p \times 5$ , ya que hay 5  $\gamma$  de fósforo presentes en el «standard» y 10 en el «standard» doble.

Como se han agregado 10  $\gamma$  para facilitar la comparación, el fósforo que había en los 2 c. c. de filtrado que se han tomado, será

$$5C_p - 10 = (C_p - 2) 5$$

El líquido total recogido del intestino se había llevado a un volumen de 20 c. c. De ellos se han tomado 10 para tratar con 2 c. c. de tricloroacético y los 2 c. c. de filtrado tomados para la determinación son así 1/12 del total recogido. La cantidad de fósforo inorgánico que había en el contenido intestinal será, pues :

$$(C_p - 2) 5 \times 12 = 60 (C_p - 2)$$

#### *Determinación del fósforo total ácido soluble.*

A otros 2 c. c. del filtrado — el de después de precipitar con tricloroacético — se agrega 1 c. c. de ácido sulfúrico y un trocito de porcelana porosa ; y se procede a la digestión, procurando que no hierva y que se vayan desprendiendo humos blancos. Para que la oxidación de la materia orgánica sea más rápida, puede ser necesario añadir una gota de NO<sub>3</sub>H ; en este caso se

sigue calentando unos minutos después que la mezcla se ha hecho incolora para eliminar el exceso de reactivo. Se deja enfriar, se añade 0'1 c. c. de fósforo 10 mg. % y se completa hasta 8 c. c. con agua destilada. Se añade 1 c. c. de solución molibdato y 1 c. c. de reductor, haciendo la lectura fotocolorimétrica como en el caso anterior.

*Cálculos.* — Exactamente como para el fósforo inorgánico.

#### *Determinación del fósforo total.*

En cada tubo de ensayo se disponía : 2 c. c. del problema — el contenido intestinal completado a 20 c. c. —, más 1 c. c. de ácido sulfúrico, y se procedía a la digestión como para el fósforo total ácido soluble. Se completa a 8 c. c. con agua destilada (después de agregar 0'1 c. c. de fósforo 10 mg. %) y luego se agregaba 1 c. c. de solución molibdato y 1 c. c. del reductor. Clorimetría.

*Cálculos.* — Se calcula  $C_p$  como para el fósforo inorgánico. En los 2 c. c. de que se ha partido, habrá  $(C_p - 2) 5$ . Como el líquido total recogido era de 20 c. c. y sólo se han tomado 2 c. c., el fósforo total será :

$$(C_p - 2) 5 \times 10 = 50 (C_p - 2)$$

#### *Determinación del fósforo lipídico.*

Se añade 1 c. c. de problema, gota a gota y agitando a 15 c. c. de una mezcla de alcohol-éter en matraz de 25 c. c. Se calienta en baño hasta ebullición, luego se deja enfriar y seguidamente se completa con alcohol-éter hasta 25 c. c., agitando fuertemente. Se filtra. 10 c. c. del filtrado se evaporan a sequedad en tubo de ensayo. El fosfato se determina por digestión con ácido sulfúrico, como se ha dicho para el fósforo total ácido soluble.

Se puede obtener también por diferencia entre el fósforo total y el fósforo ácido soluble.

*Cálculos.* — Se calcula  $C_p$  como siempre. En los 10 c. c. de filtrado evaporado a sequedad habrá, pues  $(C_p - 2) 5$ . Esta cantidad es  $1/2'5$ . Luego, con los 20 c. c. del problema total, habrá :

$$(C_p - 2) 5 \times 2'5 \times 20 = 250 (C_p - 2)$$

#### *Determinación del fósforo éster.*

Se obtiene por diferencia entre el fósforo ácido soluble y el fósforo inorgánico.

### *Determinación del fósforo lábil.*

En tubos de ensayo se disponen 2 c. c. de filtrado, a los que se agrega 1 c. c. de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  5N y se dejan 30 minutos en baño hirviendo, completando luego con agua hasta 8 c. c. ; se añade después 1 c. c. de solución molibdato y 1 c. c. de reductor. Colorimetría. La diferencia entre el P así valorado y el P inorgánico es el P lábil.

## 2. — TÉCNICA DE ABSORCIÓN

Para estudiar la secreción de diferentes fracciones de fósforo durante la absorción intestinal de azúcares, hemos utilizado la técnica de absorciones sucesivas de Sols y Ponz (20) en ratas de 60 a 180 gr. de peso, alimentadas en nuestro laboratorio con una dieta mixta ordinaria. Durante las experiencias, el ambiente en que se encuentran los animales, estaba a unos  $30^\circ$  y se controlaba la temperatura del animal, que no presentaba variaciones superiores a  $\pm 0.5^\circ$ . La presión de repleción ha sido siempre de 12 cm. de agua. Las concentraciones de azúcar se indican en las experiencias.

Los resultados pueden hacerse comparables, de unos animales a otros, refiriéndolos a longitud de intestino o a peso, para lo cual, terminadas las experiencias, se extraía el asa sin distenderla y se medía y pesaba.

## 3. — DETERMINACIÓN DEL AZÚCAR ABSORBIDO

En los pocos casos en que se hacía, se practicaba según una modificación de Sols a la técnica colorimétrica de Folin y Wu con el reactivo de Somogyi (19).

## Resultados

### 1. — SECRECIÓN DE FOSFATOS CON GLUCOSA HIPOTÓNICA

En 26 ratas se han hecho experiencias de absorción de glucosa algo hipotónica. Se distribuyeron en 4 grupos según el tiempo de absorción escogido, que fué de 15, 30, 45 ó 60 minutos. En cada animal se practicaban 2 ó 3 absorciones sucesivas de la misma duración. Al final de cada absorción se arrastraba el contenido del asa con la cantidad de suero fisiológico necesaria para completar el volumen recogido en probeta o matraz aforado hasta un volumen de 20 c. c. y a continuación se lavaba el asa

intestinal con unos 40 ó 50 c. c. más, quedando el asa intestinal preparada para la siguiente absorción.

Se introducen en el embudo 5 c. c. de glucosa al 5'4 %, insuficiente, por tanto, para arrastrar el suero fisiológico residual, con lo que quedaba mezclado con él y diluído a concentración algo hipotónica (del 3 al 4'5 %).

En las tablas I, II, III y IV se reúnen los datos de las experiencias de 15, 30, 45 y 60 minutos, respectivamente, con los valores de fósforo inorgánico, éster, lipídico y total que se encuentran en la luz intestinal al final de cada absorción. Para hacerse una idea de conjunto se han obtenido los datos de la tabla V, que corresponden a los valores medios de cada grupo. Los resultados se expresan en  $\gamma$  de fósforo por cm. de longitud de intestino.

TABLA I

*Secreción de fosfatos con glucosa hipotónica en ratas. Experiencias de 15 minutos.*

Rata	Absorción	Fósforo inorgánico	Fósforo éster	Fósforo lipídico	Fósforo total
1	1. <sup>a</sup>	0'256	0'147	0'16	0'56
	2. <sup>a</sup>	0'55	0'907	0'78	2'24
	3. <sup>a</sup>	0'61	1'507	0'916	3'03
2	1. <sup>a</sup>	0'31	0'125	0'164	0'59
	2. <sup>a</sup>	0'59	1'058	0'89	2'53
	3. <sup>a</sup>	0'69	1'558	0'95	3'2
3	1. <sup>a</sup>	0'30	0'028	0'212	0'54
	2. <sup>a</sup>	0'56	0'918	0'835	2'31
	3. <sup>a</sup>	0'616	1'54	0'913	3'07
4	1. <sup>a</sup>	0'306	0'094	0'43	0'83
	2. <sup>a</sup>	0'56	0'966	0'827	2'353
	3. <sup>a</sup>	0'61	1'524	0'91	3'04
5	1. <sup>a</sup>	0'33	0'088	0'161	0'58
	2. <sup>a</sup>	0'565	0'01	0'851	2'43
	3. <sup>a</sup>	0'622	1'66	0'958	3'24
6	1. <sup>a</sup>	0'295	0'111	0'124	0'53
	2. <sup>a</sup>	0'563	0'957	0'843	2'36
	3. <sup>a</sup>	0'66	1'48	0'92	3'06

*Absorciones de 15 minutos.*

En la 1.<sup>a</sup> absorción se encuentran ya cantidades discretas de las tres fracciones de fósforo; las cantidades presentes después de la 2.<sup>a</sup> absorción son bastante más altas que las anteriores, más especialmente por lo que se refiere al lipídico y al éster, y todavía es mayor el fósforo encontrado después de la 3.<sup>a</sup> absorción. La fracción de fósforo inorgánico, que era la más importante en la 1.<sup>a</sup> absorción, pasa a ser la inferior en las otras dos.

TABLA II

*Secreción de fosfatos con glucosa hipotónica en ratas. Experiencias de 30 minutos*

Rata	Absorción	Fósforo inorgánico	Fósforo éster	Fósforo lipídico	Fósforo total
1	1. <sup>a</sup>	1'12	0'47	0'64	1'5
	2. <sup>a</sup>	2'12	0'34	0'3	2'49
	3. <sup>a</sup>	1'30	1'02	0	2'58
2	1. <sup>a</sup>	1'10	0'44	0'26	1'71
	2. <sup>a</sup>	0'26	0'73	1'44	3'13
	3. <sup>a</sup>	0'70	0'32	0'72	2'15
3	1. <sup>a</sup>	0'83	1'066	0'21	1'96
	2. <sup>a</sup>	1'55	0'65	0'58	2'99
	3. <sup>a</sup>	0'02	1'02	0	1'95
4	1. <sup>a</sup>	0'607	1'69	0'17	2'29
	2. <sup>a</sup>	2'75	0'57	0'56	3'68
	3. <sup>a</sup>	0'27	0'32	0	0'58
5	1. <sup>a</sup>	1'056	1'013	0'01	1'99
	2. <sup>a</sup>	1'44	1'06	0'35	—

*Absorciones de 30 minutos.*

Después de 30 minutos de absorción, hay también fósforo inorgánico y fósforo éster en proporciones parecidas, y algo de fósforo lipídico. Después de la 2.<sup>a</sup> absorción se encuentran aumentadas las tres fracciones. En cambio, en la 3.<sup>a</sup> absorción nos encontramos con menos fósforo total que en la 2.<sup>a</sup>, aunque aproximadamente igual que en la 1.<sup>a</sup>, siendo la fracción más disminuída la del fósforo inorgánico, mientras que la de fósforo éster sigue casi igual.

TABLA III

*Secreción de fosfatos con glucosa hipotónica en ratas. Experiencias de 45 minutos*

Rata	Absorción	Fósforo inorgánico	Fósforo éster	Fósforo lipídico	Fósforo total
1	1. <sup>a</sup>	1'67	0'46	0'53	2'52
	2. <sup>a</sup>	2'40	0'68	2'37	6'32
2	1. <sup>a</sup>	1'63	0'77	0'61	2'87
	2. <sup>a</sup>	2'35	0'91	1'55	5'32
3	1. <sup>a</sup>	1'37	1'39	0'65	2'8
	2. <sup>a</sup>	2'29	1'16	3'08	6'63
4	1. <sup>a</sup>	1'59	0'83	0'69	2'97
	2. <sup>a</sup>	2'55	0'66	3'3	7'02
5	1. <sup>a</sup>	1'68	0'36	1'12	3'20
	2. <sup>a</sup>	2'10	1'72	3'29	5'46
6	1. <sup>a</sup>	1'52	0'91	1'05	3'35
	2. <sup>a</sup>	—	—	—	—

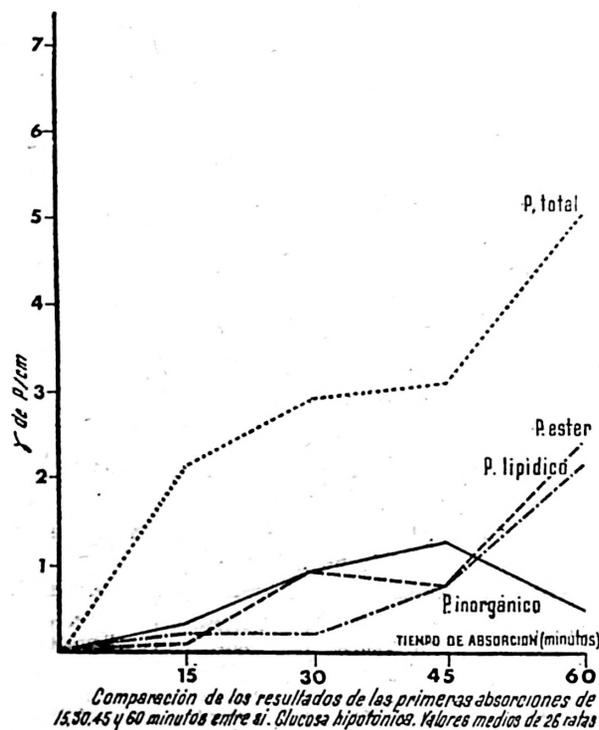
TABLA IV

*Secreción de fosfatos con glucosa hipotónica en ratas. Experiencias de 60 minutos*

Rata	Absorción	Fósforo inorgánico	Fósforo éster	Fósforo lipídico	Fósforo total
1	1. <sup>a</sup>	0'41	2'10	0'95	3'46
	2. <sup>a</sup>	0'62	3'33	2'96	6'91
2	1. <sup>a</sup>	0'41	2'39	0'67	3'47
	2. <sup>a</sup>	0'85	4'12	0'11	5'08
3	1. <sup>a</sup>	0'79	2'72	4'26	7'7
	2. <sup>a</sup>	0'95	3'69	3'91	8'55
4	1. <sup>a</sup>	0'70	2'45	1'53	4'68
	2. <sup>a</sup>	0'68	4'54	0'34	5'56
5	1. <sup>a</sup>	0'51	1'90	2'56	4'97
	2. <sup>a</sup>	0'65	5'46	1'98	8'09
6	1. <sup>a</sup>	0'63	2'62	3'1	6'35
	2. <sup>a</sup>	0'75	3'43	2'86	7'04

### Absorciones de 45 minutos.

Después de la 1.<sup>a</sup> absorción de 45 minutos se encuentra una notable cantidad de fósforo inorgánico, junto con cantidades discretas de fósforo éster y fósforo lipídico. Las tres fracciones se encuentran aumentadas en la 2.<sup>a</sup> absorción, especialmente la de fósforo lipídico.



Gráfica 1

### Absorciones de 60 minutos.

Hay poca diferencia entre la cantidad de fósforo presente después de la 1.<sup>a</sup> y de la 2.<sup>a</sup> absorciones de 60 minutos. La fracción menos abundante es, con mucho, la de fósforo inorgánico.

*Comparación de los resultados.* — Se han representado, en la gráfica 1, los valores medios de las primeras absorciones de cada grupo (tabla V), con el intento de expresar los cambios que sufren las distintas fracciones de fósforo en el curso de la

absorción (tanto para cambios en la cuantía, como para los que puedan ocurrir una vez se encuentra en la luz intestinal). De ello puede deducirse que el fósforo inorgánico va aumentando en los primeros 45 minutos para disminuir luego. El fósforo lipídico aumenta al principio sólo muy lentamente, para elevarse mucho en la última parte de la absorción. El fósforo éster también va en aumento, salvo una cierta inflexión entre los 30 y 45 minutos. Con ello el fósforo total aumenta progresivamente.

TABLA V

*Secreción de fósforo con glucosa hipotónica en ratas. Valores medios en las pruebas de 15, 30, 45 y 60 minutos*

Absorción	Fósforo	T i e m p o s			
		15'	30'	45'	60'
1. <sup>a</sup>	inorgánico	0'30	0'94	1'57	0'57
	éster	0'1	0'93	0'78	2'46
	lipídico	0'21	0'26	0'77	2'17
	total	0'61	2'13	3'13	5'1
2. <sup>a</sup>	inorgánico	0'57	1'62	2'34	0'91
	éster	0'97	0'67	1'02	4'09
	lipídico	0'84	0'65	2'31	2'02
	total	2'37	2'94	5'67	6'02
3. <sup>a</sup>	inorgánico	0'63	0'45	—	—
	éster	1'54	0'54	—	—
	lipídico	0'93	1'44	—	—
	total	3'10	2'43	—	—

## 2. — SECRECIÓN DE FOSFATOS CON GLUCOSA ISOTÓNICA

Las experiencias de absorciones sucesivas se han llevado a cabo en 8 ratas. El número de pruebas, así como los tiempos de absorción, son los mismos que en las experiencias anteriores. La dosis ha sido 10 c. c. de glucosa al 5'4 % en cada prueba, con lo que queda en el asa prácticamente isotónica.

Los resultados de las distintas ratas aparecen en la tabla VI, y los valores medios, para cada tiempo de absorción, se reúnen en la tabla VII.

*Absorciones de 15 minutos.*

La secreción de compuestos de fósforo por la mucosa, va siendo mayor en las sucesivas absorciones. En la primera absorción hay muy poco fósforo éster, siendo mayor la cantidad de fósforo inorgánico y lipídico. En la 2.<sup>a</sup> y 3.<sup>a</sup> el fósforo éster y el lipídico están en parecida proporción, siendo algo mayor la de fósforo inorgánico.

Todas las fracciones se encuentran aumentadas en relación con las mismas experiencias hechas con solución hipotónica en el asa.

TABLA VI

*Secreción de fosfatos con glucosa isotónica en ratas. Experiencias de 15, 30, 45 y 60 minutos*

Rata	Tiempo	Absorción	Fósforo inorgánico	Fósforo éster	Fósforo lipídico	Fósforo total
1	15'	1. <sup>a</sup>	0'84	0'18	0'83	1'85
		2. <sup>a</sup>	1'36	0'58	1'32	3'36
		3. <sup>a</sup>	1'75	0'83	1'29	3'88
2	15'	1. <sup>a</sup>	1'00	0'06	0'85	1'93
		2. <sup>a</sup>	1'63	1'24	0'92	3'69
		3. <sup>a</sup>	1'67	1'38	1'32	4'35
3	30'	1. <sup>a</sup>	1'87	0'65	1'11	3'63
		2. <sup>a</sup>	2'26	1'04	0'76	4'06
		3. <sup>a</sup>	0'70	0'71	0'87	2'28
4	30'	1. <sup>a</sup>	2'45	0'85	1'50	4'80
		2. <sup>a</sup>	2'66	0'82	0'88	4'36
		3. <sup>a</sup>	1'08	1'20	0'61	2'89
5	45'	1. <sup>a</sup>	3'16	0'42	2'38	5'96
		2. <sup>a</sup>	3'86	0'45	2'66	6'75
6	45'	1. <sup>a</sup>	1'86	0'66	2'88	5'4
		2. <sup>a</sup>	3'70	0'39	2'70	6'99
7	60'	1. <sup>a</sup>	1'99	0'98	2'63	5'6
		2. <sup>a</sup>	2'41	1'31	3'48	6'44
8	60'	1. <sup>a</sup>	1'63	0'72	2'93	5'28
		2. <sup>a</sup>	2'31	1'01	2'72	6'80

*Absorciones de 30 minutos.*

En las tres absorciones sucesivas se han encontrado cantidades poco distintas de fósforo éster y de fósforo lipídico. En las dos ratas se encuentra, en cambio, bastante menos fósforo inorgánico en la 3.<sup>a</sup> absorción que en las dos anteriores, por lo que el fósforo total es asimismo menor.

En la primera media hora hay más fósforo inorgánico y lipídico que en la misma experiencia con glucosa hipotónica.

TABLA VII

*Secretión de fosfatos con glucosa isotónica en ratas. Valores medios de las pruebas de 15, 30, 45 y 60 minutos*

Absorción	Fósforo	Tiempos			
		15'	30'	45'	60'
1. <sup>a</sup>	inorgánico	0'92	2'16	2'51	1'81
	éster	0'12	0'75	0'54	0'85
	lipídico	0'85	1'31	2'63	2'78
	total	1'89	4'22	5'68	5'44
2. <sup>a</sup>	inorgánico	1'54	2'46	3'78	2'36
	éster	0'86	0'93	0'42	1'16
	lipídico	1'12	0'82	2'68	3'10
	total	3'52	4'21	6'88	6'62
3. <sup>a</sup>	inorgánico	1'71	0'89	—	—
	éster	1'11	0'95	—	—
	lipídico	1'3	0'74	—	—
	total	4'12	2'58	—	—

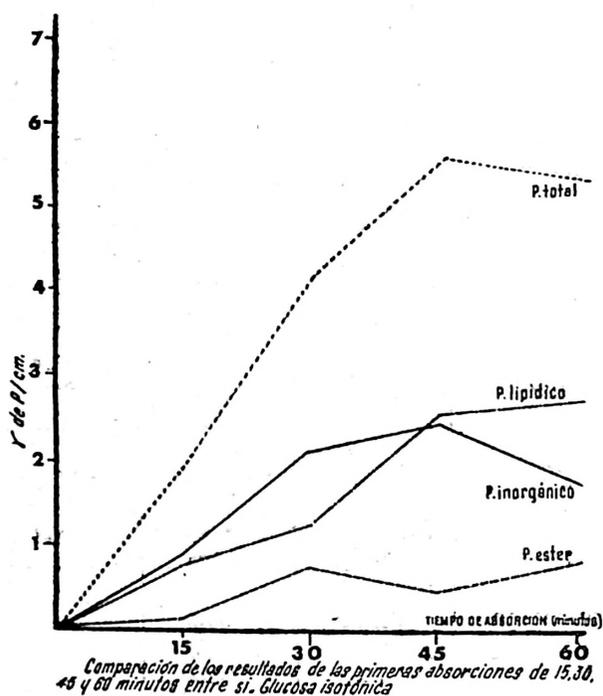
*Absorciones de 45 minutos.*

Mientras hay poca diferencia en la cantidad de fósforo lipídico y éster entre la primera y la segunda absorción, el fósforo inorgánico es mayor en la segunda que en la primera absorción. El fósforo éster se encuentra siempre en pequeña proporción y la de fósforo lipídico, en cambio, es bastante alta y mayor que en las experiencias de 15 ó 30 minutos.

*Absorciones de 60 minutos.*

Hay un cierto aumento de las fracciones de fósforo inorgánico y de fósforo éster en la segunda absorción con respecto de la primera. El lipídico se modifica poco.

La mayor diferencia entre las absorciones de esta duración con glucosa hipotónica y con isotónica está en que en esta última hay más fósforo inorgánico y menos éster que en la primera.



Gráfica 2

*Comparación de los resultados.* — La gráfica 2 reúne los datos de las primeras absorciones con duración de 15, 30, 45 y 60 minutos, en un intento de reflejar el curso de la absorción durante los 60 minutos. Según ella, el fósforo inorgánico aumenta en la primera parte de la absorción, pero para disminuir algo al final. El fósforo lipídico es cada vez mayor y el fósforo éster parece aumentar mucho más lentamente y sufriendo algunas inflexiones. Con ello el fósforo total va aumentando hasta los 45 minutos, y se mantiene o disminuye en el último cuarto de hora.

*Fósforo lábil.*

En cinco de estas ratas, en las experiencias sucesivas de 30 minutos, se ha determinado además el fósforo lábil y no se ha encontrado diferencia alguna entre el fósforo determinable después de 30 minutos con  $\text{SO}^4\text{H}^2$  5N a  $100^\circ$  y la de fósforo inorgánico, por lo cual deducimos que no hay ATP presente.

## 3. — SECRECIÓN DE FOSFATOS CON GLUCOSA HIPERTÓNICA

Se han utilizado ocho ratas, poniendo 10 c. c. de solución de glucosa al 10'8 % por el embudo de entrada al asa, con lo que, en el tramo intestinal, la solución en contacto con la mucosa tendrá una concentración inicial hipertónica, aproximadamente doble de la isotónica.

Los resultados de las absorciones sucesivas de 15, 30, 45 y 60 minutos de duración se reúnen en las tablas VIII y IX.

*Absorciones de 15 minutos.*

En las tres absorciones sucesivas se ha encontrado muy poco fósforo éster. El fósforo lipídico es más abundante. El fósforo inorgánico, en cambio, es con mucho la fracción más rica y hasta parece encontrarse en cantidad creciente en las sucesivas absorciones.

La hipertonía de la solución de glucosa parece producir una reducción del fósforo éster y un aumento considerable del fósforo inorgánico encontrados. El fósforo total presente en el contenido intestinal es mucho mayor con glucosa hipertónica que con isotónica y más con ésta que con solución hipotónica.

*Absorciones de 30 minutos.*

En las tres absorciones se encuentran cantidades exiguas de fósforo éster, valores discretos de fósforo lipídico y elevada proporción de fósforo inorgánico. En la tercera absorción disminuye el fósforo total encontrado, debido a que están reducidas también todas las fracciones, en especial la de fósforo inorgánico.

También con este tiempo de absorción se ha observado menor cantidad de fósforo éster y mayor de fósforo inorgánico cuanto mayor sea la concentración de la glucosa a absorber.

*Absorciones de 45 minutos.*

El fósforo éster apenas es demostrable, hay fósforo lipídico en proporción parecida a las otras experiencias y, en cambio, una gran cantidad de fósforo inorgánico, quizás algo mayor en la segunda absorción que en la primera.

TABLA VIII

*Secreción de fosfatos con glucosa hipertónica en ratas. Experiencias de 15, 30, 45 y 60 minutos*

Ratas	Tiempo	Absorción	Fósforo inorgánico	Fósforo éster	Fósforo lipídico	Fósforo total
1	15'	1. <sup>a</sup>	2'952	—	1'529	4'48
		2. <sup>a</sup>	4'968	—	0'545	5'513
		3. <sup>a</sup>	5'212	0'28	0'43	5'92
2	15'	1. <sup>a</sup>	3'108	0'26	1'217	4'585
		2. <sup>a</sup>	4'815	0'38	1'13	6'318
		3. <sup>a</sup>	5'065	0'18	0'83	6'07
3	30'	1. <sup>a</sup>	5'04	0'086	1'52	6'646
		2. <sup>a</sup>	6'15	0'339	0'59	7'089
		3. <sup>a</sup>	2'95	0'735	0'262	3'947
4	30'	1. <sup>a</sup>	4'22	0'15	0'62	4'99
		2. <sup>a</sup>	7'76	0'98	0'47	9'21
		3. <sup>a</sup>	3'09	0'55	0'357	3'997
5	45'	1. <sup>a</sup>	6'099	0'16	1'18	7'439
		2. <sup>a</sup>	8'01	—	1'35	9'37
6	45'	1. <sup>a</sup>	7'56	0'08	1'28	8'92
		2. <sup>a</sup>	8'47	0'22	1'29	9'95
7	60'	1. <sup>a</sup>	4'52	0'31	1'29	6'12
		2. <sup>a</sup>	6'60	1'27	2'02	9'89
8	60'	1. <sup>a</sup>	4'92	0'53	1'07	6'52
		2. <sup>a</sup>	6'36	1'19	1'26	8'81

El fósforo inorgánico encontrado es, asimismo, mucho mayor que en concentraciones más débiles de glucosa; por el contrario, el fósforo éster es menor.

*Absorciones de 60 minutos.*

Se encuentra algo más de fósforo éster y cantidades de fósforo lipídico parecidas a las de otras experiencias. El fósforo inorgánico es también muy alto y mayor en la segunda experiencia que en la primera.

Con este tiempo de absorción se confirma la disminución

T A B L A IX

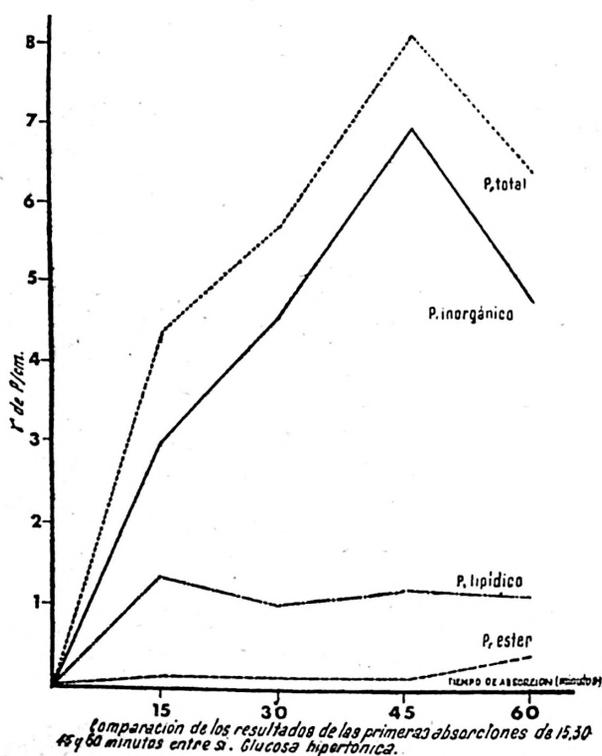
*Secreción de fosfatos con glucosa hipertónica en ratas. Valores medios de las pruebas de 15, 30, 45 y 60 minutos*

Absorción	Fósforo	T i e m p o s			
		15'	30'	45'	60'
1. <sup>a</sup>	inorgánico	3'03	4'63	6'83	4'72
	éster	0'13	0'12	0'12	0'42
	lipídico	1'37	1'07	1'23	1'18
	total	4'53	5'82	8'18	6'32
2. <sup>a</sup>	inorgánico	4'89	6'96	8'23	6'48
	éster	0'19	0'66	0'11	1'23
	lipídico	0'84	0'53	1'32	1'64
	total	5'92	8'05	9'66	9'35
3. <sup>a</sup>	inorgánico	5'14	3'02	—	—
	éster	0'23	0'64	—	—
	total	0'63	0'31	—	—
	lipídico	6'00	3'97	—	—

del fósforo éster en relación con la glucosa isotónica. El fósforo lipídico es, quizá, menor que con concentraciones de glucosa menores pero el fósforo inorgánico, como en anteriores tiempos de absorción, es más abundante cuanto mayor sea la concentración de glucosa.

*Comparación de los resultados.* — Con los datos de las primeras absorciones de 15, 30, 45 y 60 minutos se ha dibujado la gráfica 3, en la que se aprecia que el fósforo éster se mantiene en el curso de la absorción a un nivel siempre muy bajo, el lipídico siempre fluctúa también poco, pero a un nivel más alto, y el inorgánico va aumentando rápidamente hasta un máximo en los 45 minutos para disminuir algo en la última parte del tiempo de absorción.

Comparando los resultados obtenidos con las diferentes concentraciones de glucosa utilizadas, pueden hacerse las siguientes observaciones: el fósforo éster tiende a aumentar en el curso de la absorción, sobre todo, con glucosa isotónica, siendo mucho menor las cantidades encontradas cuanto mayor es la concentración de glucosa. El fósforo lipídico aumenta



Gráfica 3

también durante los 60 minutos de absorción, excepto con glucosa hipertónica, en que varía muy poco. El fósforo inorgánico aparece mucho más abundante cuanto mayor sea la concentración de glucosa puesta en el asa y va aumentando en el curso de la absorción, alcanzando un máximo hacia los 45 minutos, para disminuir después de este tiempo.

## 4. — SECRECIÓN DE FOSFATOS CON ARABINOSA

Las experiencias de absorciones sucesivas se llevaron a cabo con 8 ratas. El número de pruebas y tiempos de absorción fueron los mismos que en las anteriores. Líquido a absorber: 5 c.c. de arabinosa 4'5 %. Los resultados se expresan en las tablas X y XI.

TABLA X

Secreción de fosfatos con arabinosa. Experiencias de 15, 30, 45 y 60 minutos

Rata	Tiempo	Absorción	Fósforo inorgánico	Fósforo éster	Fósforo lipídico	Fósforo total
1	15'	1. <sup>a</sup>	1'196	0'133	0'036	1'365
		2. <sup>a</sup>	0'32	0'326	1'10	1'546
		3. <sup>a</sup>	0'76	2'36	0'12	3'24
2	15'	1. <sup>a</sup>	1'454	0'11	0'006	1'57
		2. <sup>a</sup>	0'464	0'308	0'803	1'575
		3. <sup>a</sup>	0'83	2'34	0'21	3'38
1	30'	1. <sup>a</sup>	1'64	0'21	0'066	1'916
		2. <sup>a</sup>	0'12	0'51	0'91	1'49
		3. <sup>a</sup>	2'13	0'38	1'69	4'4
2	30'	1. <sup>a</sup>	1'94	0'11	—	2'05
		2. <sup>a</sup>	0'45	0'311	0'724	1'52
		3. <sup>a</sup>	2'67	0'21	1'82	4'7
1	45'	1. <sup>a</sup>	1'93	—	0'14	2'07
		2. <sup>a</sup>	2'47	0'64	0'12	3'23
2	45'	1. <sup>a</sup>	1'66	0'22	0'37	2'25
		2. <sup>a</sup>	2'36	—	0'11	2'47
1	60'	1. <sup>a</sup>	0'77	0'8	0'12	1'69
		2. <sup>a</sup>	2'59	0'2	0'06	2'85
2	60'	1. <sup>a</sup>	0'86	0'4	0'06	1'32
		2. <sup>a</sup>	2'55	0'08	—	2'63

*Absorciones de 15 minutos.*

En la primera absorción el fósforo total casi se identifica con el fósforo inorgánico, encontrándose cantidades muy exi-

guas de las otras fracciones. En las segundas absorciones van apareciendo el fósforo lipídico y el fósforo éster, mientras se reduce el inorgánico, aumentando poco o nada el fósforo total. En las terceras se observa un incremento notable del fósforo total debido especialmente al aumento de fósforo éster.

Las cantidades de fósforo total encontradas son algo menores que las que se hallaban en absorciones de glucosa aproximadamente de igual presión osmótica, durante el mismo tiempo.

TABLA XI

*Secreción de fosfatos con arabinosa en ratas. Valores medios de las pruebas de 15, 30, 45 y 60 minutos*

Absorción	Fósforo	T i e m p o s			
		15'	30'	45'	60'
1. <sup>a</sup>	inorgánico	1'32	1'79	1'78	0'81
	éster	0'12	0'16	0'11	0'6
	lipídico	0'02	0'03	0'25	0'09
	total	1'46	1'98	2'16	1'50
2. <sup>a</sup>	inorgánico	0'4	0'28	2'14	2'57
	éster	0'32	0'41	0'32	0'14
	lipídico	0'95	0'81	0'11	0'06
	total	1'66	1'50	2'85	2'74
3. <sup>a</sup>	inorgánico	0'83	2'48	—	—
	éster	2'35	0'29	—	—
	lipídico	0'20	1'75	—	—
	total	3'31	4'55	—	—

*Absorciones de 30 minutos.*

En la primera absorción sólo aparece fósforo inorgánico y muy poca cantidad de fósforo éster. En la segunda hay bastante menos fósforo inorgánico, algo de éster y más de lipídico. En la tercera absorción, las fracciones más abundantes son las de fósforo inorgánico y lipídico y no hay casi nada de fósforo éster.

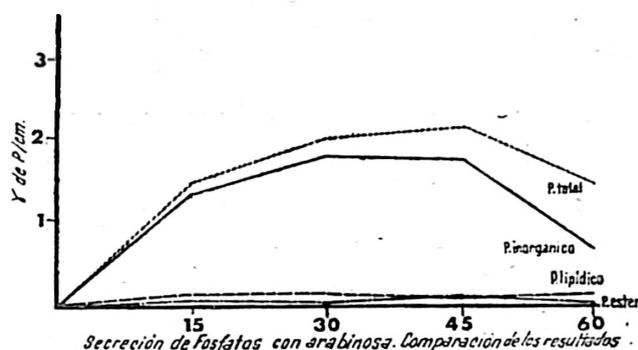
En relación con la absorción de glucosa de igual presión osmótica se observa que el fósforo total aumenta, especialmente en la tercera absorción, mientras que allí solía disminuir, y que el fósforo éster es siempre más bajo cuanto se absorbe arabinosa; además, el fósforo lipídico parece segregarse en pro-

porción creciente en las sucesivas absorciones cuando se absorbe arabinosa, mientras que apenas varía al absorber glucosa.

#### *Absorciones de 45 minutos*

El fósforo total encontrado tanto en la primera como en la segunda absorción es casi exclusivamente fósforo inorgánico, siendo escasa o nula la representación de las otras fracciones.

En la absorción de glucosa siempre había gran proporción de fósforo lipídico que no aparece con la arabinosa; además, con esta última sustancia, el fósforo total es francamente menor que con aquélla.



Gráfica 4

#### *Absorciones de 60 minutos*

Como en las anteriores experiencias, es algo mayor el fósforo total en la segunda absorción que en la primera, y está casi exclusivamente representado por el fósforo inorgánico. Contrasta en este aspecto con la gran cantidad de fósforo lipídico que se encontraba en la misma experiencia con glucosa.

*Comparación de los resultados.* — Si observamos las cantidades de fósforo presentes en las primeras absorciones de las experiencias de 15, 30, 45 y 60 minutos (fig. 4), se aprecia fácilmente que, a medida que transcurre el tiempo, va aumentando el fósforo total encontrado hasta alcanzar un máximo alrededor de los 45 minutos, decayendo algo hacia los 60. El fósforo lipídico y el fósforo éster, cuando se encuentran, sólo aparecen en muy débiles concentraciones siendo con ello muy paralelas y poco discrepantes la gráfica del fósforo inorgánico y la del fósforo total.

Las figuras 1 y 4 permiten comparar los resultados durante la absorción de arabinosa y glucosa a concentraciones equimoleculares y muestra diferencias de comportamiento bastante notables; el fósforo total aumenta mucho más con glucosa que con arabinosa; y las diferencias son debidas principalmente al aumento de las fracciones lipídicas y éster cuando se está absorbiendo glucosa, aumento que no se presenta durante la absorción de arabinosa.

#### 5. — SECRECIÓN INTESTINAL DE FOSFATOS ANTE UNA SOLUCIÓN ISOTÓNICA DE ClNa

Era interesante saber el comportamiento de la mucosa intestinal respecto de sustancias no azucaradas, y así estudiamos las fracciones de fósforo presentes cuando en el asa intestinal se disponía, en lugar de la solución de azúcar, suero fisiológico.

Se realizaron experiencias en 12 ratas, con tiempos de absorción de 15 y 30 minutos. El ClNa se utilizaba al 0'8 % en la cantidad de 5 c.c.

No se han encontrado compuestos de fósforo en ningún caso. Únicamente se aprecia en las terceras absorciones de 30 minutos una pequeña cantidad de fósforo inorgánico.

El epitelio parece distinguir claramente los azúcares del ClNa, y debe admitirse que la secreción de fosfatos ante los azúcares es una respuesta a su presencia y no un simple efecto de la repleción intestinal o del paso de agua.

#### 6. — PERSISTENCIA DE LA RESPUESTA SECRETORA ANTE LA ABSORCIÓN DE GLUCOSA

Dado que el suero fisiológico no provocaba la secreción de compuestos de fósforo, pensamos utilizarlo para ver si, después de una absorción de glucosa, bien lavado el contenido intestinal, continuaba la secreción en presencia de suero fisiológico.

Se utilizaron dos ratas. En la primera experiencia, de 30 minutos, se absorbía glucosa (5 c.c. al 5'4 %), y, durante la segunda, de la misma duración, se introducían 5 c.c. de ClNa al 8 %.

La tabla XII muestra que la cesión de fosfatos se prolonga después de haber dejado de estar la glucosa presente en el asa. Sin embargo, con ClNa se encuentra menos fosfato inorgánico

T A B L A X I I

*Persistencia de la respuesta secretora de fosfatos ante la absorción de glucosa. Experiencias de 30 minutos*

Rata	Substancia administrada	Fósforo inorgánico	Fósforo ester	Fósforo lipídico	Fósforo total
1	glucosa	0'9	0'83	0'35	1'98
	ClNa	0'2	1'4	0'4	2
2	glucosa	0'85	0'56	0'25	1'6
	ClNa	0'1	1'46	0'396	2'4
valores medios	glucosa	0'87	0'69	0'3	1'78
	ClNa	0'15	1'43	0'4	2'2

que en la absorción anterior con glucosa, y menos también que el que aparece en una segunda absorción de glucosa (ver tablas I, IV y VIII).

#### 7. — ABSORCIÓN INTESTINAL DE GLICOCOLA

Era interesante ver si la secreción de fosfatos que tiene lugar durante la absorción de hexosas y pentosas y que no se provocaba por soluciones fisiológicas isotónicas de ClNa, se producía o no en presencia de otras sustancias no azúcares y escogimos para comprobarlo la glicocola.

Se utilizaron dos ratas con experiencias de absorción de glicocola 0'6 M. de 30 minutos de duración. En ningún caso se apreció secreción alguna de fósforo.

#### 8. — SECRETIÓN DE FOSFATOS DURANTE LA ABSORCIÓN DE GLUCOSA EN PRESENCIA DE FLORRICINA

Hemos ensayado en tres ratas la acción de la florricina, conocido inhibidor de la absorción de glucosa, sobre la secreción de fosfatos. Para ello se utilizaron tres ratas con dos absorciones sucesivas de 60 minutos cada una, con glucosa al 5'4 % (5 c.c.) que contenía florricina a concentración final 0'01 M. Esta concentración inhibe muy fuertemente la absorción de glucosa.

En tales condiciones no se ha encontrado secreción alguna de fosfatos.

En las condiciones experimentales, la florricina no forma con el fosfato inorgánico que hubiera podido segregarse ningún complejo que impidiera valorarlo como tal fósforo inorgánico.

La secreción de fosfatos parece estar condicionada a la penetración de la glucosa al interior de la célula de la mucosa, penetración que está casi totalmente abolida por la florricina.

9. — SECRECIÓN DE FOSFATOS DURANTE LA ABSORCIÓN DE GLUCOSA EN PRESENCIA DEL NITRATO DE URANILO

Se han hecho experiencias como las anteriores estando presente, en lugar de la florricina, el nitrato de uranilo, a concentración final 0'001 M. Tampoco se ha encontrado ninguna secreción de fosfatos. El tiempo de absorción era de media hora.

Si después de una absorción de glucosa, estando presente el nitrato de uranilo, se lava bien, interiormente, el asa intestinal y se practica otra absorción de media hora con solución de glucosa exenta de uranilo, tampoco aparece ninguna fracción de fósforo procedente de la mucosa.

10. — SECRECIÓN DE FOSFATOS DURANTE LA ABSORCIÓN DE GLUCOSA EN PRESENCIA DEL ÁCIDO MONOYODOACÉTICO

Otro conocido inhibidor de la absorción intestinal de glucosa es el ácido monoyodoacético. Hemos querido ver si tenía algún efecto sobre la secreción de fósforo. Se han utilizado dos ratas con tiempos de absorción de 30 minutos, 10 c.c. de solución a absorber (5'4 %) con el ácido monoyodoacético pre-

T A B L A X I I I

*Secreción de fosfatos durante la absorción de glucosa en presencia del ácido monoyodoacético. Experiencia de 30 minutos. Valores medios de 2 ratas*

Absorción	Fósforo inorgánico	Fósforo éster	Fósforo lipídico	Fósforo total
1. <sup>a</sup>	1'5	1'44	—	2'94
2. <sup>a</sup>	2'11	1'41	—	3'53
3. <sup>a</sup>	2'98	2'45	—	5'4

sentando la concentración M/500. A esta concentración se producía bastante descamación epitelial. La tabla XIII reúne los resultados de las tres absorciones practicadas en cada uno de los dos animales (valores medios).

En ningún caso se ha observado fósforo lipídico. En la primera y segunda absorción el fósforo inorgánico viene a estar en la misma proporción que en las experiencias de las mismas condiciones sin monoyodoacético o acaso algo disminuída en la primera; en la tercera, en cambio, se encuentra bastante aumentado. El fósforo éster aparece en proporción algo mayor también al encontrado en ausencia de monoyodoacético, muy especialmente en la tercera absorción.

### Discusión

Se ha hecho un estudio de la secreción de compuestos de fósforo durante la absorción de glucosa a distinta concentración. La presencia de glucosa a las tres concentraciones ensayadas provoca la salida de diversos compuestos de fósforo desde las células epiteliales a la luz intestinal. Los lavados del contenido del intestino después de cada experiencia eliminaban bien los compuestos.

Después de absorberse la glucosa durante los tiempos comprendidos entre 15 y 60 minutos, aparece siempre en la luz del intestino fosfato inorgánico, fósforo éster y fósforo lipídico; en ningún caso se ha encontrado fósforo proteico. El fósforo inorgánico es más abundante cuanto mayor sea la concentración de glucosa puesta en el asa, y a lo largo de una hora de duración parece alcanzar un máximo de concentración a los 45 minutos, después de cuyo tiempo disminuye aquélla.

El fósforo éster también tiende a aumentar con el tiempo de absorción durante los 60 minutos, pero comparando las cantidades segregadas con distintas concentraciones de glucosa, se observa que disminuye el fósforo éster al ser mayor la concentración de glucosa.

El fósforo lipídico aumenta también con el tiempo de absorción, excepto con glucosa hipertónica, en que no se ve variación. Es mayor la cantidad que aparece con glucosa isotónica que con glucosa hipotónica.

De acuerdo con los datos anteriores, el fósforo total aumenta notablemente con el tiempo de absorción, revelando una salida creciente de fosfato desde la mucosa, que es mayor cuanto mayor sea la concentración de glucosa presente en el intestino. El fósforo total, a los 60 minutos de absorción, es algo más bajo que a los 45 minutos en las experiencias con glucosa hi-

pertónica, prácticamente igual en las de glucosa isotónica y mayor en las de glucosa hipotónica, lo que es debido fundamentalmente a que mientras con esta última solución el fósforo éster y el fósforo lipídico siguen aumentando notablemente de los 45 a los 60 minutos, con glucosa isotónica el aumento durante este tiempo es bastante más reducido y con glucosa hipertónica se une a esta misma causa la gran disminución de fósforo inorgánico.

Los datos de fósforo presente en el contenido intestinal después de una segunda absorción, hecha en las mismas condiciones que la primera en la misma asa intestinal de un animal, revelan que, en general, las distintas fracciones de fósforo son algo más elevadas que en las primeras absorciones, independientemente del tiempo de duración de la experiencia de que se trata.

Si las absorciones se repiten por tercera vez, sigue encontrándose un discreto aumento de las distintas fracciones de fósforo, en el caso de que el tiempo de duración de la absorción sea de 15 minutos, empezando ya a ser menores en los casos de experiencias de 30 minutos de duración. Este comportamiento se aprecia en cualquiera de las tres concentraciones de glucosa utilizadas.

Aunque no se sigan en estricto sentido las variaciones de las distintas fracciones de fósforo a lo largo de la absorción, dado que se estudian en animales distintos los diferentes tiempos de absorción, todo parece demostrar que, en las experiencias con glucosa hipertónica, al menos, tiene lugar una reabsorción de fósforo entre los 45 y 60 minutos, ya que el fósforo total en definitiva disminuye. Lo más razonable es pensar en que se reabsorbe fosfato inorgánico, dado que el fósforo éster y el fósforo lipídico quedan a una concentración tan débil, que difícilmente puede comprenderse que se difundan en sentido contrario.

Puede llamar la atención el hecho de que las cantidades de fósforo éster y fósforo lipídico que aparecen con glucosa hipotónica alcancen valores relativamente altos, y, a diferencia de lo que ocurre con el fósforo inorgánico, no aumentan correlativamente con glucosa isotónica o hipertónica. Quizá pueda explicarse este comportamiento teniendo en cuenta que inicialmente (experiencias de 15 minutos) se segregan en la misma o mayor proporción que con glucosa hipotónica y que, por la presencia del azúcar en el intestino, tiene lugar simultáneamente con la secreción de compuestos de fósforo una secreción de fosfatasas (12), mayor cuanto mayor sea la concentración de glucosa que puede, al continuar el tiempo de absorción, pro-

ducir la hidrólisis del fósforo orgánico (éster o lipídico) y su paso a inorgánico para ser reabsorbido por el epitelio.

Puede también extrañar que la suma de las cantidades de fósforo total encontradas en las dos experiencias sucesivas de 30 minutos, por ejemplo, sea superior a la que se encuentra al cabo de 60 minutos. Esta diferencia es mayor a medida que se trabaja con concentraciones de glucosa más altas. La interpretación que debe darse es que, como hemos visto anteriormente, la respuesta secretora de la mucosa es mayor cuanto mayor sea la concentración de glucosa, y como en las experiencias de 60 minutos va disminuyendo la concentración de azúcar a medida que se va absorbiendo, el estímulo secretor se reduce y el fósforo total presente no es tan grande como al cabo de 30 minutos de absorción, si se repusiera otra vez la concentración inicial.

Las experiencias con arabinosa han revelado que también se segrega fosfato inorgánico, fosfato éster y lipídico. El fósforo total va aumentando durante la absorción, con un máximo a los 30 ó 40 minutos, disminuyendo algo a los 60. Parece deducirse que tiene lugar una reabsorción de fosfato. Analizando las variaciones de las distintas fracciones de fósforo, nos encontramos con que este mismo comportamiento presenta el fósforo inorgánico, que es, con mucho, la fracción más importante. El fósforo éster se encuentra en muy pequeña cantidad y relativamente constante, y casi puede decirse lo mismo del fósforo lipídico, aunque en éste hay oscilaciones de mayor cuantía.

Estas experiencias con arabinosa algo hipotónica permiten observar, al compararse con glucosa hipotónica, que el paso de fósforo total a la luz del intestino es con la pentosa inicialmente algo mayor, pero a partir de los 30 minutos de absorción queda por debajo de lo segregado con glucosa. Estas diferencias se deben a que se encuentra inicialmente (15 minutos) más fósforo inorgánico con la pentosa que con la hexosa, y a que la secreción de fósforo éster y fósforo lipídico aumenta considerablemente en el curso de la absorción de glucosa, mientras que no se modifica apenas durante la absorción de arabinosa.

Mientras que la glucosa y la arabinosa provocan una salida de compuestos de fósforo desde la mucosa intestinal, la presencia de  $\text{ClNa}$  isotónico en la luz del intestino no da lugar a tal efecto. En este aspecto la mucosa se comporta análogamente que con la secreción de fosfatasas alcalinas. López Navarro encontró una diferencia muy notable entre la fosfatasa que se encontraba en la luz intestinal, después de la absorción de

glucosa o pentosa y la exigua proporción que aparecía en presencia de suero fisiológico.

La secreción de compuestos de fósforo ante la presencia de azúcares selectivos o no selectivos, persiste si se substituye la solución de azúcar, después de un lavado del intestino, por una solución isotónica de ClNa. En experiencias de media hora, en la segunda absorción, con ClNa, el fósforo total es igual o incluso superior al que se encuentra en la primera media hora con glucosa, mientras que disminuye mucho la cantidad de fósforo inorgánico y, en cambio, aumenta la de fósforo éster. Comparando la secreción de esta segunda absorción de ClNa con la que se encuentra en una segunda absorción de glucosa (tabla V), puede deducirse que la substitución de glucosa por ClNa lleva consigo una reducción de todas las fracciones de fósforo encontrado, con excepción de la de fósforo éster.

La glicocola no parece provocar ninguna secreción de fósforo. En esto discrepa de la secreción de fosfatasas, ya que López Navarro encontraba también respuesta secretora ante el estímulo de la glicocola.

La florricina 0'01 M. suprime totalmente la secreción de fosfatos. Tampoco se encuentran fosfatos si la disolución de glucosa lleva nitrato de uranilo 0'001 M. y al realizar una segunda absorción de glucosa sin uranilo, sucesiva a una de glucosa con uranilo, lavando bien el intestino entre ambas absorciones con suero fisiológico, tampoco se encuentra ninguna secreción de fósforo.

El monoyodoacetato, en cambio, adicionado a una solución de glucosa a concentración M/500 no inhibe la secreción de fosfatos a pesar de que reduce considerablemente la absorción de glucosa, salvo que no se encuentra fósforo lipídico. La fracción de fósforo éster parece encontrarse incluso aumentada.

Las cantidades de fósforo encontradas en las absorciones de glucosa son, en todo caso, bastante reducidas. Téngase en cuenta que los resultados vienen expresados en microgramos por cm. de intestino y que para un asa de 30 cm. la secreción de 1 mg. de fósforo corresponde a 33  $\gamma$  por cm.

Laszt y Dalla Torre (9) encontraban, en absorciones con glucosa en asas de intestino de unos 30 cm. de longitud, de 73 a 150  $\gamma$  de fósforo inorgánico, que corresponden a 2'43 y 5  $\gamma$  por cm., valores que son bastante más altos de los que nosotros hallamos. Quizá una de las causas de esta diferencia pueda ser la media de peso de las ratas en que ellos trabajaron, mucho más alta que la correspondiente a nuestros animales, que haría que la superficie de mucosa por cm. fuese mayor en las experiencias de Laszt, y correlativamente, las cantidades absolutas se-

gregadas fueran también mayores. Sin embargo, la marcha del proceso es bastante similar, salvo que sus datos presentan un máximo de fósforo inorgánico a los 30 minutos, y en los nuestros, este máximo se encuentra más bien a los 45 minutos. Con la xilosa ellos vieron una cantidad creciente de fósforo inorgánico hasta los 45 minutos, que se estabilizaba en la última parte de la absorción. Con la arabinosa nuestros resultados son algo discrepantes en cuanto que el fósforo inorgánico es, a los 15 minutos, más abundante que con glucosa, y que también hay un máximo a los 30 ó 45 minutos para disminuir bastante a los 60.

Hemos coincidido con Laszt y Dalla Torre en no encontrar tampoco fósforo inorgánico en la luz intestinal durante la absorción de glicocola, aunque en nuestro trabajo se ha podido revelar, además, que tampoco aparecía fosfato orgánico en forma alguna.

Nuestros resultados evidencian que la presencia de azúcares selectivos o no selectivos en la luz intestinal provocan la salida de compuestos de fósforo desde la mucosa a la luz intestinal que son fosfolípidos, ésteres fosfóricos ácido solubles y fosfato inorgánico. En algunos casos de absorción de glucosa se practicaba la determinación del fósforo lábil con resultado negativo, lo que indica que dentro de la fracción de fósforo éster no debe figurar, al menos en cantidad determinable, el adenosin-trifosfato. Nos inclinamos a pensar que el fósforo éster pueda ser hexosa fosfatos y ésteres fosfóricos de unidades de tres carbonos, aunque no hemos hecho ninguna determinación en este sentido, dada la exigua proporción de los mismos en medio relativamente alto de concentración de azúcares.

El hecho de que ya en las experiencias de 15 minutos estén presentes las tres fracciones de compuestos fosfóricos, hace pensar en que el fosfato inorgánico segregado debe salir de la célula como tal y no ser el resultado de la hidrólisis de los otros productos por la fosfatasa; además, la cantidad de fósforo inorgánico en ese tiempo es también más alta que la de las otras dos, lo que hace esta conclusión más convincente.

El fósforo inorgánico, por otra parte, se encuentra en mayor proporción cuanto mayor es la concentración de la solución de glucosa puesta en el intestino, mientras que la fracción de fósforo éster disminuye al aumentar esta concentración.

Es difícil decidir si hay una íntima relación entre el proceso mismo de absorción de los azúcares y la secreción de fósforo éster. A primera vista podría pensarse que si de hecho la glucosa se fosforila en la mucosa, al aumentar la concentración de ésteres hexosa-fosfóricos en el interior, podría escapar una

pequeña parte de ellos otra vez a la luz del intestino y que éste diera razón del fósforo encontrado. En este sentido habla también el que el fósforo éster que se encuentra durante la absorción de arabinosa, es mucho más bajo que el encontrado durante la absorción de glucosa de igual presión osmótica. La arabinosa, como es sabido, no puede fosforilarse por los sistemas enzimáticos de la mucosa intestinal y tampoco puede ser catabolizada por la misma. Danielli (36) deducía que para que el mecanismo de fosforilación de las hexosas fuera eficaz para acelerar el paso de las mismas, se requería que los ésteres fosfóricos de las hexosas no pudieran atravesar la membrana hacia la luz intestinal en proporción notable. Las concentraciones de ésteres fosfóricos que nosotros encontramos son tan pequeñas que son perfectamente compatibles con esta hipótesis. Téngase en cuenta que, en la media hora, se absorben por cm. de intestino unos 6 a 8 mg. de glucosa y en ese mismo tiempo, refiriendo todo el fósforo éster a glucosa fosfato, solamente se encuentra en la luz intestinal menos de 8 microgramos, lo que puede evaluarse «grosso modo» en un 1<sup>o</sup>/<sub>100</sub> de la glucosa que ha penetrado en el mismo tiempo.

Sin embargo, parecería razonable que, al aumentar la concentración de glucosa en la luz, y, por tanto, al aumentar la penetración a través de la membrana, debería aumentar la concentración de ésteres hexosafosfóricos en las células, y, por tanto, debería salir a la luz una mayor proporción de fosfato éster, lo cual no ocurre. Esto sucede, efectivamente, con el fosfato inorgánico, muy probablemente por simples razones de índole osmótica o porque parte del fosfato que se hidroliza o transfiere para penetración de la hexosa precisamente en la membrana escapa al exterior de la célula.

Según había referido Clementi (3) y Sperry y Angevine (21), la secreción intestinal contiene alguna cantidad de lipoides. Nosotros encontramos en la luz del intestino fósforo lipídico en las absorciones con glucosa y arabinosa, no apareciendo, en cambio, por la presencia del ClNa ni de la glicocola. Sin embargo, no parece probable que la secreción de fosfolípidos pueda tener alguna relación con la absorción de azúcares y debe atribuirse a reacciones celulares sin sentido para la transferencia activa de glucosa. Los resultados muestran casi siempre oscilaciones poco regulares. Puede darse por seguro que, en determinados casos, tiene lugar una reabsorción de fósforo y quizá se hidroliza el fósforo lipídico a fósforo inorgánico para la fosfatasa y penetra preferentemente este último.

Es interesante el que la mucosa siga vertiendo fosfatos a la luz del intestino en una absorción con ClNa sucesiva a otra con

glucosa, que no es debido a la presencia en sí del  $\text{ClNa}$ , ya que éste, por sí solo, no provoca tal comportamiento. Interpretamos el hecho como debido a la respuesta metabólica celular a la glucosa que se prolonga un tiempo, aun cuando ya no esté presente la glucosa. Quizá puede pensarse en que la absorción de la glucosa lleva consigo un aumento de actividad metabólica, necesaria para la misma transferencia activa, con aumentos de concentración de ésteres fosfóricos y, en general, de una mayor intensidad en el metabolismo del fósforo que se continúa, aunque se retire la solución de glucosa, y que hace que sigan saliendo de las células las distintas fracciones de fósforo encontradas. Sin embargo, como ya hemos hecho notar previamente, esta salida de fósforo es algo menor que la correspondiente a una segunda absorción con glucosa, es decir, que sigue un curso descendente de normalización.

La secreción de fosfatos durante la absorción de glucosa se suprime por completo por la presencia de florricina en la solución a absorber. Ponz y Larralde (16) han demostrado que la inhibición de la absorción de glucosa por la florricina era muy fácilmente reversible, de manera que el simple lavado del intestino volvía a la normalidad la capacidad absorbente del epitelio, por lo que la atribuyen a la inhibición por la florricina de un proceso enzimático muy superficial. Por otra parte, es conocida la inhibición de distintos procesos de fosfo y defosforilación por este glucósido, lo que hace comprender la relación que tiene esta droga con la secreción de fosfatos.

Con el nitrato de uranilo, también se inhibe la penetración de la glucosa por una acción asimismo muy probablemente superficial (Ponz, 17). Tampoco hay secreción alguna de compuestos de fósforo. Aquí vemos, además, que la inhibición de la secreción de fosfatos por el uranilo no es reversible al lavado, como tampoco lo es la absorción de glucosa.

Con monoyodoacetato se reduce mucho la secreción de fosfatos, pero no se suprime totalmente más que el fósforo lipídico.

A las concentraciones en que se han utilizado estos inhibidores, las inhibiciones de las absorciones de glucosa que se producen son con monoyodo-acético M/500 del 50 al 60 %, con florricina M/100 no superiores a 85 %, y, para el nitrato de uranilo M/1000, la inhibición es del 35 al 50 %. Se ve así que no puede establecerse una relación clara entre velocidad de penetración de la glucosa y secreción de fosfatos, dado que con monoyodoacetato en que la absorción queda inhibida lo mismo o más que con uranilo, todavía hay alguna secreción de fosfatos, mientras que no se encuentra ninguna con uranilo; por otra parte, la penetración de glucosa aun con inhibición del 80 %,

no debe ser inferior a la de arabinosa en ausencia de inhibidores, y, como ya hemos dicho, con este último, la secreción de fosfatos es bastante abundante.

El efecto de los inhibidores debe ser por su acción directa sobre el mecanismo metabólico que determina la salida de los compuestos fosfóricos de la célula, y no indirectamente por la disminución de la cantidad de azúcar que se absorbe.

Con la florricina el fenómeno podría atribuirse a que, al dificultar los procesos de fosfo y defosforilación, no escapa el fósforo de la célula.

El uranilo puede formar, como es bien sabido, complejos más o menos estables con muchos compuestos de fósforo. Como es un ión muy poco penetrante, es probable que este bloqueo ocurra en la misma membrana celular, impidiendo así también su paso a la luz del intestino.

El monoyodoacetato no tiene un efecto directo sobre los procesos de fosfo y defosforilación, sino que su acción es preferente sobre enzimas deshidrogenasas. Con ello no se impide la salida de compuesto de fósforo, aunque, al inhibir considerablemente el metabolismo, se dificulta también el metabolismo intermedio del fosfato y así se explica que se reduzca mucho la secreción de estos compuestos.

### Resumen

Se ha estudiado la salida de compuestos de fósforo — fracciones de P inorgánico, éster, lipídico y total — desde la mucosa a la luz del intestino durante la absorción de azúcares. Las pruebas de absorción se hacían, según el método de Sols y Ponz, en ratas. Se determinaba el fósforo del líquido presente en el asa intestinal después de 15, 30, 45 ó 60 minutos de absorción.

Durante la absorción de glucosa a distintas concentraciones por el intestino delgado de rata, tiene lugar un paso de diversos compuestos de fósforo desde la mucosa intestinal a la luz del intestino. El fósforo corresponde a las fracciones de fosfato inorgánico, fósforo éster y fósforo lipídico, sin encontrar nunca fósforo proteico.

El fósforo inorgánico es más abundante cuanto más concentrada era la solución de glucosa puesta en el asa y alcanza una concentración máxima durante la primera hora de absorción, a los 45 minutos.

El fósforo éster va aumentando durante los 60 minutos de absorción, encontrándose, en general, valores más bajos al aumentar la concentración de glucosa a absorber.

El fósforo lipídico presenta el mismo comportamiento con la solución de glucosa hipotónica e isotónica, aumentando durante el tiempo de absorción y es mayor su paso a la luz del intestino con glucosa isotónica que con hipotónica. En cambio., no hay apenas variabilidad con solución hipertónica de glucosa.

Las determinaciones de fósforo total revelan, de acuerdo con las observaciones anteriores, que durante la absorción de glucosa va teniendo lugar una continua salida de compuestos de fósforo desde la mucosa, global-

mente mayor cuanto mayor sea la concentración de la solución a absorber. Con glucosa isotónica y especialmente con hipertónica, suele encontrarse mayor cantidad de fósforo total a los 45 minutos que a los 60, lo que demuestra una reabsorción de una parte del fósforo que ha pasado a la luz. El paso de las distintas fracciones de fósforo desde la mucosa a la luz del intestino independientemente del tiempo de absorción de que se trate es, en general, algo más elevada en las segundas absorciones en que se renueva la solución de glucosa a absorber después de un buen lavado de intestino. Al repetir las absorciones por tercera vez, sigue observándose un discreto aumento en el fósforo endógeno encontrado en la luz del intestino si las experiencias son de 15 minutos de duración, pero comienza a ser menor con las experiencias de 30 minutos.

Es probable que la reabsorción del fósforo se haga en forma de fosfato inorgánico, que es la fracción en que se encuentra a mayor concentración.

La secreción de las tres fracciones de fósforo se presenta asimismo en experiencias con soluciones de arabinosa y también en este caso tiene lugar una parcial reabsorción del fósforo endógeno, especialmente claro en el último cuarto de hora de la absorción, en las experiencias de una hora. Casi todo el fósforo corresponde a la fracción inorgánica, siendo muy escasa la fracción del fósforo éster y fósforo lipídico. El fósforo total es, al principio de la absorción, incluso mayor que con glucosa, pero en seguida queda a un nivel más bajo del encontrado con la nexosa.

Soluciones isotónicas de ClNa en la luz del intestino no provocan la salida de ninguna fracción de fósforo.

El paso de compuestos de fósforo de la mucosa a la luz del intestino provocado por la presencia de hexosas o pentosas persiste durante cierto tiempo, aun cuando se haya substituído la solución de azúcar por otra isotónica de ClNa, aunque puede apreciarse una reducción de todas las fracciones de fósforo.

Soluciones de glicocola 0'6 M no provocan la salida de compuestos de fósforo.

La florricina, 0'01 M en la solución de azúcar a absorber, suprime totalmente la salida de compuestos de fósforo.

El uranilo, 0'001 M, produce el mismo efecto, impidiendo incluso que tenga lugar el paso de fósforo a la luz del intestino en absorciones de glucosa sin uranilo sucesivas a otra de uranilo después de un buen lavado de intestino.

El monoyodoacético M/500 no inhibe, en cambio, la secreción de fósforo éster e inorgánico.

Refiriendo todo el fósforo éster como glucosa fosfato, se evalúa la cantidad que sale de la mucosa en unas 1.000 veces menor que la cantidad de glucosa que se ha absorbido en el mismo tiempo.

Se discuten las relaciones que pueda tener la transferencia de compuestos de fósforo en la penetración de los azúcares por la mucosa.

La supresión de la salida de compuestos de fósforo por efecto de los inhibidores empleados, se atribuye a su acción directa sobre el mecanismo metabólico que determina tal salida, sin relación con la cantidad de azúcar que se absorba. La florricina y el uranilo, que son los más eficaces inhibidores, tienen una acción preferentemente superficial y están relacionados con procesos de fosfo y defosforilación.

### Summary

A study has been carried out on the outlet of phosphor compounds — fractions of inorganic, ester, lipidic and total P — from the mucosa to

the intestinal lumen during sugar absorption. The absorption tests were carried out with Sols and Ponz' method. The phosphor present in the liquid in the intestinal loop was determined after 15, 30, 45 and 60 minutes of absorption.

During absorption of glucose at distinct concentrations by the small intestine of the rat, there takes place a passing of divers phosphor compounds from the intestinal mucosa to the intestinal lumen. The phosphor corresponds to the fractions of inorganic, ester and lipidic phosphor, without ever finding any proteic phosphor.

Inorganic phosphor is more abundant when the solution of glucose in the loop is more concentrated and reaches its maximum concentration during the first hour of absorption, at 45 minutes.

Phosphor ester is increasing during 60 minutes of absorption, lower values being generally found when the glucose to be absorbed increases.

Lipidic phosphor shows the same behaviour with a hypotonic or isotonic glucose solution, increasing during the time of absorption and its passage to the lumen of the intestine is more rapid with isotonic than with hypotonic glucose. On the other hand there is hardly any variability with hypertonic solution of glucose.

The determinations of total phosphor reveal, in accordance with the anterior observations, that during glucose absorption a continuous outlet of phosphor compounds from the mucosa takes place, globally the larger, when the concentration of the glucose solution to be absorbed is higher. With isotonic and specially with hypertonic glucose a larger quantity of total phosphor is generally found at 45 minutes than at 60, which shows a reabsorption of part of the phosphor that has reached the lumen. The passage of the distinct fractions of phosphor from the mucosa to the intestinal lumen independently of the time of absorption, is generally somewhat higher in second absorptions when the glucose solution to be absorbed is renewed after a thorough washing of the intestine. On absorptions being repeated for the third time, we still observe a discreet increase in the endogenous phosphor found in the lumen, if the experiments are of 15 minutes' duration, but same begins to lessen in experiments of 30 minutes' duration.

The reabsorption of the phosphor is probably done in the form of inorganic phosphate, this being the fraction found at higher concentrations.

The secretion of the three fractions of phosphor is shown itself also in experiments with arabinose solutions and also in this case a partial reabsorption of the endogenous phosphor takes place, specially notable during the last quarter of an hour of the absorption, in experiments of one hour. Nearly all the phosphor corresponds to the inorganic fraction, the fraction of phosphor ester and lipidic phosphor being very scarce. The total phosphor is at the beginning of the absorption even greater than with glucose, but at once stays at a lower level of that found with hexose.

Isotonic solutions of  $\text{ClNa}$  in the intestinal lumen do not provoke the outlet of any fraction of phosphor.

The passage of phosphor compounds from the mucosa to the lumen of the intestine provoked by the presence of hexose or pentose persists during a certain time, even when the sugar solution has been substituted by another isotonic of  $\text{ClNa}$ , although a reduction of all the fractions of phosphor may be observed.

Solutions of 0,6 M glycine do not provoke the outlet of any compounds of phosphor.

Phloridzine, 0,01 M in the sugar solution to be absorbed totally suppresses the outlet of phosphor compounds.

Uranyle, 0,001 M, produces the same effect, even preventing the passage of phosphor to the lumen taking place in successive glucose absorptions without uranyl to another with uranyl, after a thorough washing of the intestine.

Iodoacetate M/500, on the other hand, does not inhibit the secretion of phosphor ester and inorganic phosphor.

Referring all the phosphor ester as a hexose phosphate the quantity leaving the mucosa is evaluated in about 1000 times less than the quantity of glucosa that has been absorbed in the same time.

The relations with the transference of phosphor compounds may have in the penetration of sugars in the mucosa, are being discussed.

The suppression of the outlet of phosphor compounds through the effect of the inhibitors employed is attributed to their direct action on the metabolic mechanism which determines such an outlet, without any relation to the quantity of sugar that has been absorbed. Phloridzine and uranyl which are the most efficacious inhibitors, have a preferentially superficial action and are related to processes of phospho and dephosphorylation.

### Bibliografía

- (1) BISSEGER, A. y LASZT, L. : *Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta*; **9**, C. 60, 1951.
- (2) BOURNE, G. : *Citology and cell physiology*. University Press. Oxford, 1945.
- (3) CLEMENTI, A. : *Boll. soc. ital. biol. esper.*; **2**, 584, 1927.
- (3b) DANIELLI, J. F. y DAVSON, H. : *The permeability of Natural Membranes*. Cambridge, 1943.
- (4) DEANE, H. W. y DEMPSEY, E. W. : *Anat. Rec.*; **93**, 401, 1945.
- (5) FISKE, C. H. y SUBBAROW, Y. : *Jour. Biol. Chem.*; **66**, 375-400, 1925.
- (6) GOMORI, G. : *J. comp. Physiol.*; **17**, 71-83, 1941.
- (7) KJERULF-JENSEN, K. : *Acta physiol. Scand.*; **4**, 225, 1942.
- (8) KJERULF-JENSEN, K. y LUNDGAARD, E. : *Hoppe-Seylers Z.*; **266**, 217-24, 1940.
- (9) LASZT, L. y DALLA TORRE, L. : *Schweiz. med. Wschr.*; 1916, 1941.
- (10) LASZT, L. : *Schweiz. med. Wschr.*; 193, 1942.
- (11) LASZT, L. : *Bull. Soc. Fribourgeoise des Scien. Nat.*; **37**, 171, 1945.
- (12) LÓPEZ NAVARRO, J. : *R. esp. Fisiol.*; **2**, 211, 1946.
- (13) LUNDGAARD, E. : *Hoppe-Seylers, Z.*; **193**, 208, 1939.
- (14) MEYERHOF, O. y GREEN, H. : *J. biol. Chem.*; **178**, 655, 1949.
- (15) MEYERHOF, O. y GREEN, H. : *J. biol. Chem.*; **183**, 377, 1950.
- (16) PONZ, F. y LARRALDE, J. : *R. esp. Fisiol.*; **8**, 71-82, 1952.
- (17) PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*; **8**, 217, 1952.
- (18) ROSENBERG, Th. y WILBRANDT, W. : *Internat. Rev. Cytol.*; **1**, 1952.
- (19) SOLS, A. : *R. esp. Fisiol.*; **5**, 149-54, 1949.
- (20) SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*; **2**, 283, 1946.
- (21) SPERRY, W. M. y ANGEVINE, R. W. : *J. Biol. Chem.*; **87**, XXII, 1930.

