

Laboratorio de Fisiología Animal
Universidad de Santiago de Compostela
(Prof. J. Larralde)

Efectos de la florricina sobre la absorción de azúcares selectivos y no selectivos en la rata

por

Jesús Larralde y Alberto Giráldez *

(Recibido para publicar el 21 de noviembre de 1957)

Al estudiar PONZ y LARRALDE (8) el papel de una serie de inhibidores enzimáticos sobre la absorción de la glucosa en intestino de rata, pudieron comprobar que, frente a todos los otros inhibidores, la florricina es el que, actuando a más débiles concentraciones, la inhibe más intensamente; y, por otra parte, su efecto es muy fácilmente reversible, pues desaparece total y rápidamente por simple lavado de la mucosa. El conocimiento de esta específica reversibilidad aumenta el interés por el empleo de florricina como inhibidor enzimático en el estudio de los procesos que intervienen en la absorción selectiva.

Hace algunos años, BOGDANOVÉ y BARKER (1) ensayaron la acción de la florricina sobre la absorción intestinal de algunos monosacáridos, y dedujeron que no sólo no inhibe, sino que favorece la absorción de la fructosa, lo que quiere decir que este monosacárido debe absorberse por un mecanismo distinto al de los restantes azúcares selectivos, y de aquí que ellos mismos sugirieran la presencia en la mucosa intestinal de un enzima específico para la fosforilación de la fructosa, al

* Becario del Instituto Español de Fisiología y Bioquímica.

que llaman fructosa-fosforilasa, no inhibida por la florricina.

El interés de estos resultados nos indujo a revisarlos, puesto que por nuestra experiencia sobre la absorción selectiva nos resultaba difícil admitir este aumento en la velocidad de absorción de la fructosa con la florricina. Por otra parte, la escasa casuística existente sobre la inhibición florricínica frente a monosacáridos distintos de la glucosa, hizo que ensayáramos sus efectos sobre los siguientes azúcares: galactosa, glucosa, fructosa, manosa, xilosa y arabinosa.

Material y métodos

Las experiencias se llevaron a cabo con ratas blancas de peso comprendido entre 100 y 250 g. Anestesia con uretano por inyección subcutánea a la dosis de 0,12 g. por 100 g. de peso. Usamos la técnica de absorciones sucesivas de SOLS y PONZ (9), con asas de longitud comprendida entre 15 y 30 cm., presión de repleción de 12 cm. de agua y períodos de absorción de 30 minutos. Durante las pruebas se mantuvo la temperatura ambiente de modo que las oscilaciones en la temperatura rectal no fueran mayores de $\pm 0,3^{\circ}$ C. La determinación de azúcares se llevó a cabo por cuadruplicado con el método colorimétrico de SOMOGYI (12), modificado por SOLS (10).

Resultados

a) GLUCOSA.

Para estudiar la acción de la florricina sobre la absorción de glucosa realizamos cuatro experiencias sucesivas en la misma asa del mismo animal. La primera y tercera absorciones se llevaron a cabo con soluciones puras isotónicas de glucosa al 5,4 por 100, mientras que en la segunda y cuarta añadimos florricina de modo que quedara en la solución a absorber a una concentración M/1.000.

Indicamos nuestros resultados en micromoles de azúcar absorbidos por centímetro de intestino durante treinta minutos: creemos es más lógico de esta manera que en forma de miligramos, puesto que azúcares con pesos moleculares distintos, pero idénticas velocidades moleculares de absorción, no dan la misma cifra si expresáramos ésta en miligramos, cosa que sí ocurre en micromoles.

Las experiencias realizadas aparecen en la tabla I, en las que puede verse la sistemática inhibición florricínica que al-

canza valores comprendidos entre un 65 y un 47 por 100, con una media de un 52 por 100.

Estos resultados están de acuerdo con los publicados recientemente por SMYTH y colaboradores (3 y 4), pues si bien la

TABLA I

Absorción de glucosa isotónica al 5,4 %, en el intestino de rata, frente a florricina M/1000. Tiempo de absorción de 30 minutos

Peso (gr.)	Longitud Intestino (cm.)	Absorción Glucosa	Absorción Micromoles por cm.	Inhibición %
147	31	Sola	27,3	
		Con F	12,9	53
160	34	Sola	26,8	
		Con F	12,9	52
		Sola	45,0	
		Con F	22,8	50
179	31	Sola	46,6	
		Con F	21,2	55
		Sola	50,1	
		Con F	24,6	51
171	22	Sola	51,9	
		Con F	25,8	51
		Sola	45,6	
		Con F	22,3	52
198	35	Sola	50,6	
		Con F	21,3	58
		Sola	26,8	
		Con F	9,3	65
160	27	Sola	28,1	
		Con F	11,2	60
		Sola	44,2	
		Con F	21,4	52
200	27	Sola	46,7	
		Con F	23,7	50
		Sola	58,4	
		Con F	30,7	48
194	28	Sola	58,0	
		Con F	31,2	47
		Sola	25,7	
		Con F	12,7	51
201	25	Sola	19,4	
		Con F	10,2	48
		Sola	57,7	
		Con F	30,6	47
		Sola	59,9	
		Con F	29,5	53
		Inhibición media .		52

inhibición encontrada por ellos es algo mayor que la indicada por nosotros, tal diferencia se explica por la diferente técnica empleada y la distinta concentración de azúcar que usan los autores ingleses, ya que, como demostraron LARRALDE y GIRÁLDEZ en un trabajo anterior (5), la inhibición florricínica está en relación con la concentración de azúcar, explicación que, por otra parte, sugieren los mismos autores (4) al comparar sus resultados con los de PONZ y LARRALDE (8).

TABLA II

Absorción de galactosa isotónica al 5,4 %, en el intestino de rata, frente a florricina M/1000. Tiempo de absorción de 30 minutos

Peso (gr.)	Longitud intestinal (cm.)	Absorción Galetoza	Absorción Micromoles por cm.	Inhibición %
100	25	Sola	29,3	84
		Con F	4,8	
		Sola	18,2	
		Con F	8,4	
165	23	Sola	53,5	54
		Con F	20,3	
		Sola	54,5	
		Con F	22,2	
230	25	Sola	49,9	60
		Con F	11,9	
		Sola	39,5	
		Con F	14,2	
198	26	Sola	55,2	64
		Con F	20,3	
		Sola	52,4	
		Con F	21,7	
204	21	Sola	51,4	59
		Con F	27,2	
		Sola	55,3	
		Con F	24,1	
226	25	Sola	48,2	57
		Con F	28,7	
		Sola	51,4	
		Con F	20,1	
235	20	Sola	44,1	61
		Con F	19,7	
		Sola	46,3	
		Con F	17,4	
Inhibición media . . .				60

b) GALACTOSA.

Comprobado el efecto de la florricina M/1.000 sobre la absorción de glucosa en rata, iniciamos el estudio sobre la absorción de la galactosa en idénticas condiciones.

Hay pocos datos del papel que la florricina ejerce sobre la absorción de la galactosa. WERTHEIMER (13), que estudió este efecto, hizo únicamente dos experiencias en ratas con la técnica de Cori, y se limitó a indicar que también la florricina influía sobre la absorción intestinal de la galactosa. Recientemente, BOGDANOV (1) ha vuelto a estudiar el problema y encuentra que en ratas florricínicas, por inyección subcutánea de una suspensión de florricina en aceite de sésamo — 0,25 c. c./100 g. a intervalo de doce horas —, la absorción disminuye en un 40 por 100. Nuestros resultados indican una inhibición mayor, lo que pudiera explicarse por el distinto método usado para la medida del azúcar absorbido, así como por la vía empleada al añadir el inhibidor.

Nuestra inhibición alcanza un valor de un 60 por 100, es decir, que en la rata la absorción de galactosa se inhibe más intensamente que la de glucosa. Coincide en este caso la mayor velocidad de paso con una mayor inhibición frente a la florricina.

Un hecho interesante es que, a pesar de esta mayor inhibición, se mantiene perfectamente el carácter reversible en todos los casos, como puede apreciarse comparando cualquiera de las absorciones primera y tercera de la tabla II.

c) FRUCTOSA.

En la tabla III se encuentra el papel de la florricina sobre la absorción intestinal de la fructosa. Experiencias por las que teníamos especial interés, puesto que, como ya hemos indicado, se ha negado la capacidad de la florricina para inhibir la absorción de la fructosa, admitiéndose incluso un proceso inverso, es decir, la absorción de fructosa aumentaría en presencia de la florricina.

Pues bien, como se ve en nuestros resultados, la florricina no favorece la absorción intestinal de fructosa, sino que existe una clara inhibición, aunque ésta, de un 21 por 100, sea bastante menor que las que vimos para la galactosa y la glucosa, por lo que quizá el mecanismo de absorción de la fructosa sea diferente al de las anteriores hexosas, como admiten FRIDHANDLER y QUASTEL (2) para el intestino aislado de cobayo y OTA y SHIBATA (6) en el de conejo. Si, como dice SOLS (11),

TABLA III

Absorción de fructosa isotónica al 5,4 %, en intestino de rata, frente a florricina M/1000. Tiempo de absorción de 30 minutos

Peso en gr.	Longitud intestino en cm.	Absorción Fructosa	Absorción Micromoles por cm.	Inhibición %
167	31	Sola	19,1	
		Con F	10,7	44
		Sola	13,9	
		Con F	11,3	34
165	28	Sola	17,4	
		Con F	12,0	32
		Sola	13,8	
		Con F	12,6	9
108	30	Sola	20,3	
		Con F	16,4	19
		Sola	15,7	
		Con F	13,8	11
141	24	Sola	20,4	
		Con F	15,6	24
		Sola	18,4	
		Con F	16,6	10
150	27	Sola	22,4	
		Con F	19,0	14
		Sola	16,1	
		Con F	16,1	0
196	19	Sola	18,3	
		Con F	12,0	45
		Sola	12,7	
		Con F	9,4	18
165	25	Sola	15,3	
		Con F	8,7	44
		Sola	12,5	
		Con F	11,5	9
247	21	Sola	16,7	
		Con F	10,4	37
		Sola	15,4	
		Con F	13,5	13
Inhibición media				21

la fructosa tiene una velocidad de fosforilación mayor que las de glucosa, galactosa y manosa, y no hay correlación entre las velocidades de absorción y fosforilación, tampoco es proporcional, según nuestros datos, la inhibición florricínica con la velocidad de fosforilación por la hexoquinasa.

Otro hecho característico de la inhibición florricínica frente a la fructosa es la mayor inhibición que se presenta en la se-

gunda experiencia respecto a la cuarta. Observamos por vez primera — frente a las anteriores hexosas — que no hay una completa recuperación después del uso de la florricina.

TABLA IV

Absorción de manosa isotónica al 5,4 %, en el intestino de rata, frente a florricina M/1000. Tiempo de absorción de 30 minutos

Peso (gr.)	Longitud intestinal (cm.)	Absorción Manosa	Absorción Micromoles por cm.	Inhibición %.
117	30	Sola	17,4	
		Sola	8,9	
		Con F	8,7	3
		Sola	5,2	
		Con F	6,4	—19
111	30	Sola	8,7	
		Sola	5,7	
		Con F	3,7	35
		Sola	4,1	
		Con F	4,1	0
140	23	Sola	15,3	
		Sola	9,2	44
		Con F	7,1	
		Sola	7,1	
		Con F	8,2	—5
187	25	Sola	19,4	
		Sola	4,5	
		Con F	4,5	0
		Sola	3,1	
		Con F	2,4	23
137	29	Sola	18,8	
		Sola	10,4	
		Con F	8,2	22
		Sola	9,1	
		Con F	5,4	41
200	33	Sola	13,1	
		Sola	8,2	
		Con F	6,2	25
		Sola	6,2	
		Con F	5,3	15
Inhibición media				15

d) MANOSA.

Estudiado el papel de la florricina sobre las anteriores hexosas, quisimos ver finalmente su papel sobre la manosa, azúcar de muy escasa selectividad.

Tenemos que destacar aquí el especial comportamiento de la manosa al absorberse por el intestino de rata, ya que frente a los azúcares selectivos que mantienen sensiblemente constante la velocidad de su absorción durante más de cuatro o cinco experiencias sucesivas, con la manosa aparece siempre un des-

censo muy acusado entre la primera y siguientes absorciones. Esta caída — que únicamente puede comprobarse con el uso de la técnica de absorciones sucesivas — parecería indicar como si se saturase la mucosa del intestino en la primera media hora o como si en la primera absorción hubiera un mecanismo diferente a las siguientes.

Precisamente, para soslayar este hecho que pudiera enmascarar los efectos de la florricina, nos ha parecido obligado el llevar a cabo dos primeras absorciones con manosa sola.

De todas formas, la absorción es francamente menor y la florricina influye más débilmente que en anteriores experiencias, no habiendo más inhibición que el 15 %, después de descartar el normal descenso entre las dos primeras absorciones.

TABLA V

Absorción intestinal de xilosa al 4.5 %, en intestino de rata, frente a florricina M/1000. Tiempo de absorción de 30 minutos

Peso (gr.)	Longitud intestinal (cm.)	Absorción Xilosa	Absorción Micromoles por cm.
108	23	Sola	12,0
		Con F	3,8
		Sola	1,9
		Con F	4,8
120	25	Sola	10,8
		Con F	4,0
		Sola	7,6
		Con F	8,1
157	33	Sola	11,2
		Con F	6,1
		Sola	9,0
		Con F	7,5
123	42	Sola	7,3
		Con F	5,2
		Sola	5,7
		Con F	7,8
125	23	Sola	20,2
		Con F	7,7
		Sola	12,5
		Con F	14,9
140	23	Sola	13,9
		Con F	6,8
		Sola	7,7
		Con F	12,5
120	34	Sola	7,2
		Con F	2,5
		Sola	3,0
		Con F	5,0
161	42	Sola	5,4
		Con F	2,1
		Sola	0
		Con F	2,5
Inhibición media			5 %

c) XILOSA.

Con la xilosa abordamos el estudio del papel de la florricina en la absorción de las pentosas.

Desde los primeros trabajos de los autores suizos sobre la teoría de la fosforilación, según la cual pentosas como la xilosa atravesarían la mucosa intestinal por un proceso puramente físico, es decir, sin fosforilarse previamente, se ha discutido mucho sobre si la xilosa se absorbe o no selectivamente.

PONZ y LARRALDE demostraron (7) que su absorción dependía del pH del contenido intestinal. Recientemente, OTA y SIBHATA (6), por sus trabajos en el intestino delgado de conejo, pretenden que la galactosa, glucosa y xilosa son fosforiladas en su absorción gracias a un sistema fosforilante, íntima y reversiblemente unido a los procesos respiratorios.

TABLA VI

Absorción de arabinosa isotónica al 4,5 %, en intestino de rata, frente a florricina M/1000. Tiempo de absorción de 30 minutos

Peso (gr.)	Longitud intestinal (cm.)	Absorción Arabinosa	Absorción Micromoles por cm.
126	36	Sola	8,3
		Sola	1,9
		Con F	1,5
		Sola	1,8
		Con F	1,4
138	31	Sola	10,7
		Sola	1,1
		Con F	1,7
		Sola	5,3
		Con F	3,4
115	25	Sola	6,2
		Sola	3,7
		Con F	3,7
		Sola	3,9
		Con F	1,3
120	24	Sola	5,5
		Sola	1,5
		Con F	2,9
		Sola	1,2
		Con F	1,8
143	32	Sola	7,0
		Sola	3,0
		Con F	3,6
		Sola	1,0
		Con F	1,5
116	23	Sola	5,5
		Sola	1,5
		Con F	1,9
		Sola	1,1
		Con F	1,9

De aquí el interés de estudiar la acción de la florricina en la absorción de este azúcar, ya que una inhibición análoga a las anteriores hablaría mucho en favor de su selectividad.

Como puede apreciarse en los protocolos de la tabla VI, hay una extraordinaria diferencia entre los resultados consignados hasta ahora y los que aparecen con la primera pentosa.

En primer lugar, la absorción es notablemente menor. De unos cincuenta o cuarenta micromoles por centímetro en las absorciones de la galactosa o glucosa, hemos descendido a diez. Junto con esta menor absorción, aparece también una menor constancia en las pruebas sucesivas, lo que dificulta la obtención de resultados. Según los nuestros, la florricina no ejerce efecto apreciable sobre la absorción de xilosa, puesto que una inhibición de un 5 por 100, dada la variabilidad de los datos, resulta despreciable.

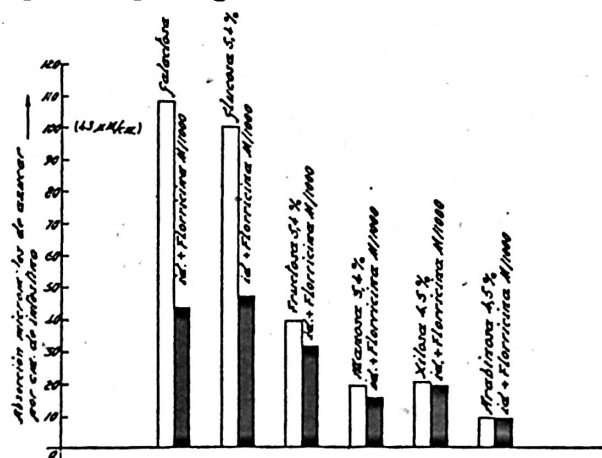
f) ARABINOSA.

El último azúcar ensayado en el intestino de rata ha sido la arabinosa, y, como muestran los datos de la tabla VI, la florricina no influye en su absorción.

Hay, como en la manosa — azúcar no selectivo —, una caída muy apreciable entre la primera y la segunda absorciones, que nos obligó a realizar las dos primeras experiencias con arabinosa sola, añadiendo la florricina a partir de la tercera.

La absorción es muy escasa, de unos siete micromoles por centímetro de intestino, en experiencias de 30 minutos, y en estas condiciones el papel de la florricina no es valorable.

En la gráfica que sigue resumimos las inhibiciones florri-



cínicas frente a soluciones isotónicas de galactosa, glucosa, fructosa, manosa, xilosa y arabinosa.

Hemos tomado como valor 100 la absorción de glucosa por centímetro de intestino, durante 30 minutos, que, según

la media de nuestros resultados, viene a ser de unos 43 micro-moles por centímetro. Como puede apreciarse, la máxima inhibición pertenece a la galactosa, que es también el azúcar que más rápidamente se absorbe; le siguen la glucosa y fructosa. La manosa se inhibe muy ligeramente. La pequeña diferencia encontrada frente a las pentosas no es valorable.

Resumen

Se ha estudiado con la técnica de absorciones sucesivas de SOLS y PONZ, el papel de la florricina en la absorción por el intestino de rata de soluciones isotónicas de Galactosa, Glucosa, Fructosa, Manosa, Xilosa y Arabinosa. La florricina se añadía a la solución a absorber de modo que quedara a la concentración 0,001 M.

La galactosa es el azúcar más fuertemente inhibido (60 %) seguido de la glucosa (52 %). No hemos podido comprobar el pretendido aumento en la velocidad de absorción de la fructosa por la florricina, ya que por el contrario se encuentra también inhibición, aunque menor que las anteriores (21 %).

Con la manosa, y gracias a la técnica de absorciones sucesivas, hemos encontrado un notable descenso entre la primera y siguientes absorciones, por lo que para estudiar el efecto de la florricina se tenía necesidad de comparar su acción a partir de la segunda experiencia llevada a cabo con solución sola de manosa; teniendo en cuenta este hecho sólo se aprecia una ligera disminución por la acción de la florricina. Análogo fenómeno se presenta con la arabinosa.

La inhibición de la absorción de xilosa frente a la florricina no es valorable.

Summary

Effects of phlorizin on intestinal absorption of selective and non-selective sugars in the rat

On studying the role of phlorizin on intestinal absorption of monosaccharides BOGDANOV and BARKER (1) reached the conclusion that this substance inhibits the absorption of galactose and glucose but augments the passage of fructose, which leads one to suppose that the mechanism of absorption of fructose is different from that of other selective monosaccharides. They suggest for this the presence of a specific fructosephosphorylase in the intestinal mucous membrane, concerned with the absorption of fructose and not inhibited by phlorizin.

As their study was performed with the Cori technique, we considered of interest to revise it with the successive absorption techniques of SOLS and PONZ (9), which by performing several experiments in the same intestinal loop of the same animal, correct variation shown between different animals and permit a greater exactness in the tests.

We performed four experiments in the same loop of the same animal. Duration of each experiment was half an hour.

In the first and third absorption, about 25 centimetres pure sugar solution was placed in the loop; in the second and fourth experiments the same sugars with M/1000 phlorizin. Results are expressed in micromols of sugar absorbed per centimetre of intestine.

Galactose is the most strongly inhibited sugar (Table II), 60 %, followed by glucose (Table I) the inhibition of which reaches 52 %. We were unable to prove the supposed increase in velocity of fructose absorption with phlorizin, on the contrary we found inhibition, although to a lesser extent than for the others, it being 21 % (Table III).

With mannose (Table IV) a clear fall is shown on comparing the first two absorptions, even though they are pure solutions of sugar. In the succeeding tests, this lesser absorption being taken into account, a slight diminution appears due to phlorizin. A similar phenomenon is found with arabinose. Absorption of xylose is slow, and results with phlorizin cannot be estimated.

For first time, thanks to the successive absorption technique, we find that the velocity of absorption of non-selective sugars decreases markedly after the first thirty minutes absorption.

Inhibition by phlorizin is brought about only while the inhibitor is present in the solution to be absorbed. Simple washing of the intestine with saline solution restores normal capacity of absorption glucose and galactose. However inhibition of fructose absorption is much less reversible by simply washing.

Bibliografía

- (1) BOGDANOVA, R., y BARKER, S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **75**, 77, 1950.
- (2) FRIDHANDLER, L., y QUASTEL, J. H.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **56**, 412, 1955.
- (3) JERVIS, E. L., SHEFF, M. F., y SMYTH, D. H.: *J. Physiol.*, **131**, 16, 1956.
- (4) JERVIS, E. L., SHEFF, M. F. y SMYTH, D. H.: *J. Physiol.*, **134**, 675, 1956.
- (5) LARRALDE, J., y GIRÁLDEZ, A.: *Pharmacia Mediterránea*, pág. 359, 1956.
- (6) OTA, R., y SHIBATA, M.: *Kyushu. Mem. Med., Sci.*, **5**, 107, 1954.
- (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., y PONZ, F.: *R. esp. Fisiol.*, **3**, 207, 1947.
- (10) SOLS, A.: *R. esp. Fisiol.*, **5**, 149, 1949.
- (11) SOLS, A.: *R. esp. Fisiol.*, **11**, 277, 1955.
- (12) SOMOGYI, M.: *J. Biol. Chem.*, **160**, 61, 1954.
- (13) WERTHEIMER, E.: *Pflügers Arch.*, **233**, 514, 1934.