

Departamento de Fisiología y Bioquímica (C.S.I.C.)
Facultad de Ciencias
Universidad de Barcelona

Inhibición del transporte activo de azúcares por el intestino de rata *in vitro*.

II. Acción de la atebrina, atractilósido y selenito

por

J. Nadal* y F. Ponz

(Recibido para publicar el 10 de abril de 1965)

En trabajos previos (2, 4, 5) se ha estudiado el efecto de un buen número de inhibidores metabólicos sobre la absorción intestinal de azúcares *in vivo*. En el presente trabajo se refiere la acción *in vitro* de la atebrina, el atractilósido y el selenito, que inhiben el transporte activo de azúcares por el intestino de rata, confirmando las anteriores observaciones *in vivo*.

Material y métodos

Se ha utilizado la técnica de WILSON y WISEMAN (7) de sacos evertidos de yeyuno de rata y, con los detalles técnicos, modo de expresión de resultados y otras condiciones expresadas en otro trabajo (6).

Resultados

1. ATEBRINA.

Algunas observaciones señalaron la inhibición de la absorción intestinal de azúcares *in vivo* (2) por la atebrina y no

parece se haya estudiado su efecto *in vitro*. Hay numerosos datos de inhibiciones de diversos enzimas por esta sustancia y también es un agente que bloquea la fosforilación oxidativa (3).

Concentraciones altas, 10^{-2} M, inhiben totalmente el transporte activo, provocando fuerte descamación epitelial. En la tabla I, se muestra que concentraciones diez veces más bajas son ya ineficaces y que la atebrina 5×10^{-3} M ejerce cierta inhibición. Estos experimentos se hicieron con glucosa 20 mM en el medio.

Si se comparan estos resultados con los obtenidos *in vivo* sobre la absorción intestinal de glucosa 5,4 % (2) se observan algunas diferencias: La atebrina 10^{-2} M inhibe el transporte activo *in vitro* totalmente y la absorción en un 50 a 80 %; y a 10^{-3} M todavía hay cierto efecto sobre la absorción y no se encuentra en cambio inhibición *in vitro*.

* Trabajo realizado con la ayuda de una beca de Protección Escolar.

TABLA IV

Efecto de la atebrina, atractilósido y selenito sobre la absorción de glucosa y galactosa por el intestino de rata *in vitro*.

Inhibidor	Azúcar	S/M	Inhibición %	N.º sacos
Atebrina	glucosa			
0	20 mM	2,16		10
10^{-3} M	20 mM		no significativo	2
5×10^{-3} M	20 mM		85	4
10^{-2} M	20 mM		100	4
Atractilósido	galactosa			
0	5 mM	1,9		12
10^{-4} M	5 mM		no significativo	2
10^{-3} M	5 mM		77	2
10^{-4} M	5 mM		75	4
10^{-3} M	5 mM		100	4
Selenito	glucosa			
0	2 mM	6,9		2
0	5 mM	2,7		11
5×10^{-3} M	5 mM		no significativo	2
10^{-4} M	2 mM		70	6
10^{-3} M	2 mM		70	5
	galactosa			
0	5 mM	2,1		6
10^{-3} M	5 mM		—	2
10^{-4} M	5 mM		75	4

2. ATRACTILÓSIDO.

Desde hace unos años se ha puesto de manifiesto la inhibición de la fosforilación oxidativa por este glucósido (1). *In vivo* pudo revelarse que la absorción intestinal de glucosa se inhibía cuando el atractilósido estaba presente en la solución de azúcar (5). Los experimentos *in vitro* han revelado que el transporte activo de galactosa (Tabla I) se inhibe por concentraciones del glucósido 10^{-5} M y superiores, siendo total a 10^{-3} M.

Esta última concentración producía *in vivo* (5) inhibiciones de la absorción intestinal de glucosa 5,4 % que sólo eran del 21 al 35 %. En este caso, los preparados *in vitro* resultan claramente más sensibles a la presencia del glucósido, y concentraciones de éste 10^{-5} M son aún

muy eficaces en inhibir el transporte activo, en tanto carecen de efecto *in vivo*.

3. SELENITO.

El selenito sódico, ejerce *in vivo* inhibición sobre la absorción intestinal de glucosa (4). En los preparados de sacos evertidos, la inhibición aparece con concentraciones superiores a 5×10^{-5} M (Tabla I). Los experimentos se han hecho tanto con glucosa como con galactosa 5 mM.

Al final del experimento, los sacos de intestino tomaban una coloración algo rojiza cuando se trabajaba a concentraciones de selenito 10^{-4} M y superiores, debido, muy probablemente, a la reducción del anión a selenio rojo a nivel del tejido.

Estos resultados confirman en general las observaciones *in vivo* a la vez que revelan diferencias de sensibilidad entre ambos tipos de experimentos. El selenito 10^{-3} M inhibía *in vivo* de un 11 a un 30 % (4) la absorción de glucosa 5,4 % y como hemos visto el transporte activo se inhibe en un 70 %. A 10^{-4} M la absorción *in vivo* se inhibía del 12 al 15 %, mientras el transporte activo *in vitro* se inhibe aún fuertemente (70 por ciento). A 2×10^{-5} M no hay efecto ni *in vivo* ni *in vitro*.

* Los p han dado valores menores de 0,01.

Discusión

Se confirma que la atebрина, atractilósido y selenito, que ejercían inhibición de la absorción intestinal de glucosa 5,4 por ciento *in vivo*, son capaces de inhibir el transporte activo de azúcares en preparados de sacos de yeyuno evertido de rata.

Se aprecian, sin embargo, ciertas diferencias cuando se comparan las concentraciones eficaces y las inhibiciones producidas en ambos tipos de experimentos. A pesar de ello, en general, las concentraciones eficaces en ambos sistemas son de un orden de magnitud similar, salvo en el caso del atractilósido en que los experimentos *in vitro* son sensibles a concentraciones 10 veces más bajas.

Las discrepancias son mayores en lo que se refiere al grado de inhibición producido por una determinada concentración de inhibidor. Con frecuencia son más bajas las inhibiciones de absorción *in vivo* que las de transporte *in vitro*. Muy rara vez se encuentran inhibiciones del 100 % en la absorción de glucosa isotonicada *in vivo* y, en cambio, *in vitro* se consigue suprimir totalmente o casi del todo el transporte activo.

Las diferencias experimentales entre ambos métodos de estudio son suficien-

tes para no extrañar los resultados algo distintos que se encuentran. *In vivo* se había trabajado con glucosa 5,4 % lo que representa un fuerte gradiente a favor de la difusión pasiva de mucosal a serosal, mientras *in vitro* la concentración inicial es idéntica en ambos compartimentos y cualquier movimiento preferente implica un paso contra gradiente. De otra parte, *in vivo* pueden estar implicados otros factores debido a la absorción del inhibidor, efectos circulatorios, etcétera, que no interfieren los estudios *in vitro*.

Resumen

Se demuestra que la atebрина, atractilósido y selenito que habían sido referidos como inhibidores de la absorción intestinal de glucosa, son inhibidores del transporte activo de azúcares en sacos de yeyuno de rata evertido (método de Wilson y Wiseman).

Atebrina 5×10^{-3} M y 10^{-2} M inhibe un 85 % y un 100% respectivamente el transporte activo de galactosa. Con atractilósido 10^{-3} M y 10^{-4} M las inhibiciones fueron del 77 % y del 100 % y con selenito 10^{-4} M y 10^{-5} M, de un 70 %.

En general, los inhibidores son eficaces dentro de órdenes de magnitud similares *in vivo* e *in vitro*. El atractilósido es bastante más eficaz *in vitro* que *in vivo* y la atebрина, algo menos.

Es más fácil conseguir inhibiciones totales del transporte activo de azúcares *in vitro* que de absorción intestinal *in vivo* desde soluciones isotónicas.

Summary

Inhibition of the active transport of sugars through the intestine of the rat *in vitro*. II. Action of atebrine, atractyloside and selenite

It is shown that atebrine, atractyloside and selenite, which had been considered as inhibitors of the intestinal absorption of glucose, are inhibitors of the active transport of sugars in sacs of everted

jejunum of the rat (Wilson and Wiseman method).

Atebrine 5×10^{-3} M and 10^{-2} M inhibit, by 85 % and 100 % respectively, the active transport of galactose. With atractyloside 10^{-3} M and 10^{-2} M, the inhibitions were 77 % and 100 % and, with selenite 10^{-4} M and 10^{-3} M, about 70 %.

In general the inhibitors are efficacious within orders of magnitude which are similar *in vivo* and *in vitro*. Atractyloside is rather more efficacious *in vitro* than *in vivo*, and atebrine rather less.

It is easier to achieve total inhibitions of the active transport of sugars *in vitro*

than of intestinal absorption from isotonic solutions *in vivo*.

Bibliografia

- (1) BRUNI, A., BISTOCCHI, M. e CONTESSA, A. R. : *Boll. Soc. It. Biol. Sper.*, **34**, 459, 1958.
- (2) ESCRIBANO, J. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **11**, 153, 1955.
- (3) LOOMIS, W. F. and LIPMAN, F. : *J. Biol. Chem.*, **173**, 807, 1948.
- (4) PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **8**, 261, 1952.
- (5) PONZ, F. y LLUCH, M. : *R. esp. Fisiol.*, **16**, Suppl. I., 297, 1960.
- (6) PONZ, F. y J. NADAL : *R. esp. Fisiol.*, **21**, , 1965.
- (7) WILSON, T. H. and WISEMAN, G. : *J. Physiol.*, **123**, 116-125, 1954.