

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

## Inhibición del transporte activo de azúcares por el intestino *in vitro*. I. Acción de dinitrofenol, cianuro y un compuesto de amonio cuaternario

por

F. Ponz y J. Nadal\*

(Recibido para publicar el 10 de abril de 1965)

Es bien conocido que el transporte activo de azúcares por el intestino es dependiente de energía metabólica y que diversos inhibidores metabólicos son capaces de bloquear el transporte tanto *in vivo* como *in vitro*, debido a la menor disponibilidad de energía celular para su acoplamiento al proceso (1, 8, 11).

Sin embargo, hay pocos estudios en que se relacionen las concentraciones de inhibidor eficaces sobre el metabolismo del intestino y las que resultan también eficaces sobre el transporte activo de azúcares.

En un trabajo anterior del mismo Departamento, se ha hecho una investigación de las concentraciones de diversos inhibidores metabólicos que son activas sobre el consumo de O<sub>2</sub> de la mucosa intestinal — yeyuno —. En el presente se estudian los niveles de concentración a que algunos de esos inhibidores muestran efectos seguros sobre el transporte activo de azúcares.

Los inhibidores de que se da cuenta

son el Dinitrofenol, el cianuro y un compuesto de amonio cuaternario.

### Material y métodos

El transporte activo de azúcares por el intestino de rata se ha estudiado *in vitro* mediante la técnica de sacos evertidos de WILSON y WISEMAN (12), según se detalla en un trabajo previo (2).

Se han utilizado D-glucosa, D-galactosa y L-arabinosa. Los inhibidores se disponían a las concentraciones deseadas en la solución mucosal. Se ha comparado siempre las actividades con y sin inhibidor, entre sacos tomados de un mismo animal, en posiciones adyacentes.

Los resultados se expresan en aumentos (+) o disminuciones (—) de la capacidad de transporte referidas en por ciento de la actividad normal, tal como se precisa en otro trabajo (5).

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

### Resultados

Los preparados de sacos de yeyuno de rata, trabajan bien en las condiciones experimentales control (5) tanto con glucosa como con galactosa. La arabinosa no se transportaba activamente, como ya es conocido.

En condiciones anaerobias sustituyendo la gasificación normal de los matracos con carbógeno (95 % O<sub>2</sub> y 5 % CO<sub>2</sub>) por la gasificación con N<sub>2</sub> a igual flujo (8 l/hora), se interrumpía por completo el transporte activo de glucosa y galactosa, sin que se modificara apreciablemente la transferencia de arabinosa.

TABLA I

Efecto del DNP sobre la absorción de glucosa y galactosa por el intestino de rata *in vitro*.

Transporte				
Inhibidor	Azúcar	S/M	Inhibición %	sacos
DNP	glucosa	—	—	11
0	2 mM	4,47	—	
10 <sup>-4</sup> M	2 mM		—	1
5 × 10 <sup>-6</sup> M	2 mM		—	3
10 <sup>-5</sup> M	2 mM		100	3
10 <sup>-4</sup> M	2 mM		100	4
	galactosa			
0	5 mM	1,8		4
10 <sup>-3</sup> M	5 mM		100	

#### 1. DINITROFENOL (DNP).

Diversos trabajos habían revelado que el DNP, conocido agente que desacopla la fosforilación oxidativa, inhibía el

transporte activo de azúcares *in vitro* (2, 3). *In vivo* (10) la situación era menos clara, pero se producía sin duda inhibición por administración parenteral (10). Los experimentos *in vitro* se habían hecho sólo a concentración 10<sup>-4</sup> M, obteniendo bloqueos prácticamente totales del transporte activo, lo que se refería al desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. Sin embargo, esas concentraciones inhiben ya claramente el consumo de O<sub>2</sub> por la mucosa intestinal (9) en ausencia de sustrato exterior.

Se han ensayado concentraciones de DNP entre 10<sup>-6</sup> y 10<sup>-4</sup> M. Como se ve en la Tabla I el DNP no sólo a concentración 10<sup>-4</sup> M sino también a 10<sup>-5</sup> M inhibe totalmente el transporte activo, tanto con glucosa 2 mM como con galactosa 5 mM. Las concentraciones 5 × 10<sup>-6</sup> M son en cambio poco o nada inhibidoras.

#### 2. CIANURO.

El CN<sup>-</sup> es otro conocido inhibidor metabólico y del transporte activo de azúcares *in vitro* (2). Los experimentos *in vivo* no permitieron separar el efecto sobre la absorción intestinal, de trastornos más generales (57). El CN<sup>-</sup> se había ensayado *in vitro* sólo a concentración 10<sup>-2</sup> M (2). Un estudio de concentraciones inferiores (Tabla II) reveló que el transporte activo de galactosa 5 mM es ya sensible a concentraciones de CN<sup>-</sup> mucho más bajas. El CNK 5 × 10<sup>-4</sup> M provoca ya una fuerte inhibición del transporte activo.

TABLA II

Efecto del cianuro sobre la absorción de glucosa y galactosa por el intestino de rata *in vitro*.

Inhibidor	Azúcar	S/M	Inhibición %	sacos
CNK	galactosa			
0	5 mM	1,8	—	8
5 × 10 <sup>-4</sup> M	5 mM		80	4
10 <sup>-4</sup> M	5 mM		—	6

## 3. COMPUESTO DE AMONIO CUATERNARIO

Este compuesto (cloruro-monohidratado de di-isobutil-fenoxi-etoxi-etil-dimetil-bencil-amonio) es un conocido germicida de amonio cuaternario, detergente. Trabajos *in vivo* revelaron su capacidad de inhibir la absorción de glucosa por el intestino (4). *In vitro* se había observado acción con otros compuestos de este grupo (6).

lación oxidativa. Es pues sólo a este último nivel,  $10^{-5}$  cuando puede atribuirse el bloqueo de transporte al efecto característico del DNP sobre la fosforilación oxidativa. En este sentido debe señalarse también que se ha observado un mayor consumo de glucosa por los tejidos con DNP  $10^{-5}$  M que en ausencia de DNP, y que, al contrario, con DNP  $10^{-4}$  M el consumo del azúcar es bastante más bajo que en los controles.

TABLA III

Efecto del amonio cuaternario sobre la absorción de glucosa y galactosa por el intestino de rata *in vitro*.

Inhibidor	Azúcar	S/M	Inhibición %	sacos
Amonio cuaternario	galactosa			
0	5 mM	1,9		18
$10^{-4}$ M	5 mM		—	8
$5 \times 10^{-4}$ M	5 mM		no significativo	4
$10^{-3}$ M	5 mM		72	6

Nuestros experimentos *in vitro* se han hecho con concentraciones entre  $10^{-3}$  M y  $10^{-4}$  M. Esta última no mostró efecto sobre el transporte activo de galactosa 5 mM. Se inhibe el transporte a  $10^{-3}$  M y no se ha encontrado significación a  $5 \times 10^{-4}$  M.

## Discusión

DNP. — Produce un bloqueo total del transporte activo no sólo a la concentración  $10^{-4}$  M citada en la bibliografía sino también a concentración 10 veces menor. Datos sobre la influencia de este agente sobre el consumo de oxígeno (9) indican que en concentración  $10^{-4}$  M hay una fuerte inhibición de la respiración de la mucosa en ausencia de sustrato, lo que explica el bloqueo del transporte. A  $10^{-5}$  M, en cambio, no sólo no se produce disminución del consumo de  $O_2$  sino un aumento, conforme al típico efecto de desacoplamiento de la fosfori-

CIANURO. — La sensibilidad del transporte activo de azúcares al cianuro es similar a la que presenta la respiración de la mucosa (9). En efecto, ambos procesos se inhiben con seguridad a partir de concentraciones del orden de  $5 \times 10^{-4}$  M. Las concentraciones previamente ensayadas para el bloqueo del transporte activo (2) eran de  $10^{-2}$  M, son sumamente altas y desde luego inhiben muy fuertemente la respiración.

COMPUESTO DE AMONIO CUATERNARIO. Estudios *in vivo* (4) mostraron que esta sustancia producía ligera inhibición ya a  $10^{-5}$  M. *In vitro* no hemos encontrado efecto seguro hasta  $10^{-3}$  M aunque parece inferior ya a  $5 \times 10^{-4}$  M. Esta última concentración produce disminución del consumo de  $O_2$  en ausencia de sustrato lo que prueba su penetración en las células de la mucosa (9). Se explica así su efecto sobre el transporte activo por su acción sobre la respiración del

tejido, aun cuando el nivel de actividad demostrado *in vivo* (4) y su comportamiento a niveles más bajos sobre la respiración de la mucosa en presencia de glucosa exterior (9) indican también una acción del compuesto a nivel de membrana.

\* Los p han dado valores menores de 0'01.

### Resumen

Se relacionan las concentraciones de los respectivos inhibidores en su actividad sobre el transporte activo de azúcares por intestino evertido de rata y en su efecto sobre la respiración del tejido previamente estudiado.

El dinitrofenol inhibe totalmente el transporte activo de azúcares a concentración  $10^{-5}$  M, por su acción sobre la fosforilación oxidativa. El mismo efecto a  $10^{-4}$  M se debe a inhibición respiratoria.

El cianuro inhibe el transporte activo a concentraciones similares que las que inhiben la respiración de la mucosa. Ambos procesos se afectan ya con seguridad con  $CN^{-} 5 \times 10^{-4}$  M.

El compuesto de amonio cuaternario inhibe el transporte activo a concentración  $10^{-3}$  M y parece tener algún efecto a  $5 \times 10^{-4}$  M, que también inhibe la respiración de la mucosa.

### Summary

#### Inhibition of the active transport of sugars through the intestine of the rat in vitro. I. Action of dinitrophenol, cyanide and a quaternary ammonium compound

A relation has been made between the concentrations of the respective inhibitors in their activity on the active transport of sugars through the everted

intestine of the rat and their effect on the respiration of the tissue previously studied.

Dinitrophenol totally inhibits the active transport at concentrations of  $10^{-5}$  M, through its action on the oxidative phosphorylation. The same effect at  $10^{-4}$  M is due to respiratory inhibition.

Cyanide inhibits the active transport at concentrations similar to those which inhibit the respiration of the mucosa. Both processes are already certainly affected with  $CN^{-} 5 \times 10^{-4}$  M.

The quaternary ammonium compound inhibits the active transport at a concentration of  $10^{-3}$  M, and seems to have some effect at  $5 \times 10^{-4}$  M, which also inhibits the respiration of the mucosa.

### Bibliografía

- (1) CRANE, R. K. : *Physiol. Rev.*, **60**, 789-825, 1960.
- (2) DARLINGTON, W. A. and QUASTEL, J. H. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **43**, 194, 1953.
- (3) FRINDHANDLER, L. and J. H. QUASTEL : *Arch. Biochem. Biophys.*, **56**, 412, 1955.
- (4) LLUCH, M. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **9**, 135, 1953.
- (5) NADAL, J. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **21**, 1965.
- (6) NISSIM, J. A. : *Nature*, **187**, 4734, 308-310, 1960.
- (7) PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **9**, 277-285, 1953.
- (8) PONZ, F. : *Arquiv. Portug. Bioquim.*, **VII**, 93, 1963.
- (9) PONZ, F. y BALASCH, J. M. : *R. esp. Fisiol.*, **20**, 69-75, 1964.
- (10) PONZ, F. y LLUCH, M. : *R. esp. Fisiol.*, **16**, 297-308, 1960.
- (11) WILSON, T. H. : «Intestinal absorption». W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1962.
- (12) WILSON, T. H. and WISEMAN, G. : *J. Physiol.*, **123**, 116-125, 1954.