Efectos del dipiridamol sobre la absorción de glucosa por el intestino de rata incubado en distintas soluciones amortiguadoras

E. Barbosa, B. Herreros, M. Sopena y J. R. Vázquez de Prada

Departamento de Fisiología
y Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Valladolid (España)

(Recibido el 27 de abril de 1972)

E. BARBOSA, B. HERREROS, M. SOPENA y J. R. VAZQUEZ DE PRADA. *Glucose Absorption by Rat Intestine Incubated In Different Buffers. Effects of Dipyridamol.* R. esp. Fisiol., 28, 251-254. 1972.

Everted sacs of rat jejunum were incubated either in Krebs-Ringer-phosphate (pH 6.8) or in Krebs-Ringer-bicarbonate (pH 7.4) solutions, both with 5 % CO₂-95 % O₂ as gas phase. Glucose utilization by the tissue was notably reduced in phosphate buffer, which resulted in greater amount of sugar being transferred to the serosal fluid and higher serosal/mucosal concentration ratios than in bicarbonate buffer. Dipyridamol (0.5 mM, added to the serosal fluid) further inhibits glucose utilization by the tissue in both buffers, the extent of inhibition being similar in the two cases (about 15 %). Lactate production by the tissue, studied in bicarbonate buffer, was also reduced in presence of Dipyridamol. Since the absolute reduction of lactate production closely agrees on a molar basis with the inhibition of glucose utilization, it is suggested that the main effect of Dipyridamol could be an inhibition of aerobic glycolysis in the tissue.

En un trabajo previo (2) se ha demostrado que el dipiridamol (DPD) modifica ligera, pero significativamente, algunos de los parámetros relacionados con la absorción de glucosa en el intestino de rata *in vitro*. El DPD produce una disminución del consumo de glucosa por el tejido, lo que se acompaña de un aumento de la cantidad neta de azúcar transferida al lado serosal de la preparación. En los experimentos que se describen a continuación se compara el efecto del DPD cuando el intestino es incubado en dos medios

en los que su comportamiento en cuanto al consumo de glucosa es diferente, y se ha estudiado también el efecto del DPD sobre la producción de lactato por el tejido.

Material y métodos

Se han empleado sacos de intestino evertido, según la técnica de WILSON y WISEMAN (8), obtenidos de ratas machos (Wistar) de unos 200 g de peso. De cada animal se prepararon cuatro saquitos, en condiciones idénticas a las descritas pre-

viamente (2), incubando dos como controles y los otros dos con la adición de DPD (0,5 mM) en el lado serosal de la preparación.

En una primera serie de experimentos, los sacos de intestino se llenaron e incubaron con solución Krebs-Ringer-fosfato (6), con el buffer de fosfatos ajustado inicialmente a pH de 6,8. En otra serie se utilizó solución Krebs-Ringer-bicarbonato (6), a pH de 7,4. En ambos casos, la concentración inicial de glucosa en los líquidos mucosal (10 ml) y serosal fue 5 mM, y la incubación se realizó durante una hora, a 37° C, en atmósfera de 5 % CO₂-95 % O₂. Una vez en equilibrio con la atmósfera con 5 % de CO₂, el pH de la solución Krebs-Ringer-fosfato, medido con electrodo de vidrio, era de 6,5.

Los volúmenes de líquido serosal inicial y final de cada saco se calcularon a partir de los pesos inicial y final del saco lleno y el peso del saco vacío al final de la incubación. La concentración de glucosa se determinó por el método de la glucosa-oxidasa (Boehringer, Mannheim). Para cada saco se calculó el cociente de concentración final serosal/mucosal, la captación mucosal, el transporte neto y el consumo por el tejido, como se definen en el trabajo anterior (2). Las determinaciones de lactato se realizaron por el método de BARKER y SUMMERSON (1), y para cada saco se calculó la producción total por el tejido (total de lactato existente en los líquidos serosal y mucosal finales, expresado

en mg/100 mg de tejido) y el cociente de concentración serosal/mucosal. El análisis estadístico de los resultados se hizo aplicando el t-test de Student.

Resultados

Utilizando como medio de incubación Krebs-Ringer-fosfato (tabla I), el intestino consume menos glucosa que con la solución Krebs-Ringer-bicarbonato (45 % y 78 % de la captación mucosal, respectivamente), y, como consecuencia, el transporte neto de azúcar al lado serosal de la preparación y el cociente de concentración final serosal/mucosal resultan notablemente más elevados en el medio con buffer de fosfatos.

El DPD inhibe significativamente el consumo de glucosa por el tejido en ambos medios de incubación, siendo el grado de inhibición similar en los dos casos si se expresa en porcentaje del consumo de los respectivos sacos controles (—15 y —14 por ciento). Sin embargo, debido a las marcadas diferencias existentes en los valores controles obtenidos en uno y otro medio, la repercusión de dicha inhibición sobre el transporte neto de glucosa es más llamativa en los sacos incubados con buffer de bicarbonato, en los que el transporte neto aumenta en presencia de DPD en más de un 50 % con respecto a los controles, comparado con un aumento del 13 % en el medio con buffer de fosfatos. Esto mismo queda reflejado en las pro-

Tabla I. Efecto del dipiridamol (DPD) sobre la absorción de glucosa por el intestino de rata incubado en Krebs-Ringer-fosfato.

Los valores son medias $\pm$ E.S.M. La captación mucosal, el transporte neto y el consumo están expresados en mg de glucosa/100 mg de peso húmedo final de tejido/hora. Entre paréntesis, el número de sacos.

	Controles (14)	Dipiridamol (14)	p
Cociente serosal/mucosal	16,89 $\pm$ 2,94	17,95 $\pm$ 2,16	
Captación mucosal	2,18 $\pm$ 0,13	2,19 $\pm$ 0,12	
Transporte neto	1,18 $\pm$ 0,10	1,34 $\pm$ 0,08	
Consumo por el tejido	1,00 $\pm$ 0,04	0,85 $\pm$ 0,05	< 0,05

Tabla II. Efectos del dipiridamol (DPD) sobre la absorción de glucosa y la producción de lactato por el intestino de rata incubado en Krebs-Ringer-bicarbonato.

Los valores son medias $\pm$ E.S.M. La captación mucosal, el transporte neto y el consumo de glucosa, y la producción total de lactato se expresan en mg/100 mg de peso húmedo final de tejido/hora. Entre paréntesis, el número de sacos.

	Controles (16)	Dipiridamol (16)	P
Absorción de glucosa			
Cociente serosal/mucosal	6,02 $\pm$ 0,91	8,14 $\pm$ 1,29	
Captación mucosal	1,82 $\pm$ 0,09	1,81 $\pm$ 0,09	
Transporte neto	0,38 $\pm$ 0,06	0,58 $\pm$ 0,06	< 0,05
Consumo por el tejido	1,43 $\pm$ 0,04	1,23 $\pm$ 0,04	< 0,005
Producción de lactato			
Producción total	1,09 $\pm$ 0,05	0,91 $\pm$ 0,05	< 0,02
Cociente serosal/mucosal	9,06 $\pm$ 0,44	8,48 $\pm$ 0,43	

porciones en que cambian los respectivos cocientes de concentración final serosal/mucosal.

En los sacos incubados en solución Krebs-Ringer-bicarbonato (tabla II), alrededor de un 75 % de la glucosa consumida aparece en forma de lactato en los líquidos serosal y mucosal. La concentración final de lactato es 8 a 9 veces mayor en el lado serosal que en el lado mucosal, aunque teniendo en cuenta los volúmenes de los respectivos líquidos, la cantidad total de lactato existente a uno y otro lado de la pared intestinal es muy similar. En presencia de DPD disminuye la producción de lactato por el tejido (16 %), pero no aparece cambio significativo en su cociente de concentración final serosal/mucosal. La disminución de la producción de lactato, en valores absolutos, equivale, aproximadamente, a la disminución del consumo de glucosa; así, a partir de los datos de la tabla II se puede calcular que la disminución de la producción de lactato es de 20 μ M/g de tejido/hora, y la disminución del consumo de glucosa de 11 μ M/g/hora. La aproximación de estas cifras a la relación teórica 2:1, sugiere que el efecto principal del DPD es una inhibición de la glicolisis aerobia en el tejido.

Discusión

El diferente comportamiento en cuanto a utilización y transporte neto de glucosa por el intestino evertido de rata, según se incube en solución con buffer de fosfatos o con buffer de bicarbonato, está de acuerdo con observaciones de otros autores (4, 7). WILSON, por ejemplo, encuentra que en el buffer de bicarbonato el intestino produce un 60 % más de lactato que en el buffer de fosfatos (7), con el consiguiente aumento de la utilización de glucosa. La demostración de LARRALDE y PONZ (3) de que los fosfatos no modifican la absorción de glucosa *in vivo*, medida como desaparición del azúcar de la luz del intestino, no está en contradicción con estos resultados, ya que la aparente mayor eficiencia de los sacos evertidos en el transporte transmural de glucosa con el buffer de fosfatos, no se debe a mayor captación mucosa, sino fundamentalmente a la disminución de la cantidad consumida por el tejido.

Existen pruebas de que la glicosis es una fuente de energía necesaria en el intestino *in vitro* para que el transporte activo de substratos, tales como galactosa y prolina, alcance velocidades máximas (5). No obstante, si se compara el comporta-

miento de la preparación en buffer de fosfatos y en buffer de bicarbonato, es evidente que la habitual intensidad de la glicolisis observada en el intestino de rata *in vitro* pueda reducirse considerablemente sin que se comprometa por ello el proceso de transporte de glucosa.

El efecto inhibitor del DPD sobre el consumo de glucosa aparece en los dos medios de incubación empleados con intensidad similar. Nuestros datos sugieren que se trata preferentemente de una inhibición de la glicolisis aerobia, inhibición que, por su magnitud, puede quedar dentro de los límites de la aparente variación facultativa de la intensidad de la glicolisis, y, por ello, no afecta al proceso de acumulación contra gradiente de la glucosa. Queda por determinar si en presencia de DPD aumenta la provisión de energía metabólica en las células por procesos distintos al de la glicolisis.

Resumen

Se estudia el efecto del dipiridamol sobre la absorción de glucosa por el intestino de rata incubado *in vitro* en buffer de fosfatos o en buffer de bicarbonato. Se comprueba que el intestino consume menos glucosa en el buffer de fosfatos, aumentando en consecuencia la

cantidad transferida al líquido serosal. En ambos medios de incubación, el dipiridamol inhibe el consumo de glucosa por el tejido en un 15 %, aproximadamente. Esta inhibición se corresponde con una disminución equivalente de la producción de lactato en el buffer de bicarbonato, lo que sugiere que el fármaco puede actuar inhibiendo la glicolisis aerobia en el tejido.

Bibliografía

1. BARKER, S. B. y SUMMERSON, W. H.: *J. Biol. Chem.*, **138**, 535, 1941.
2. HERREROS, B., BARBOSA, E. y SOPENA, M.: *R. esp. Fisiol.*, **28**, 191, 1972.
3. LARRALDE, J. y PONZ, F.: *R. esp. Fisiol.*, **6**, 169, 1950.
4. SKALA, J., KUJALOVA, V., SEGOVA, E., HROMADKOVA, V. y VAVRINKOVA, H.: *Physiol. Bohemoslov.*, **12**, 118, 1963.
5. SMYTH, D. H.: En «Intestinal Transport of Electrolytes, Amino Acids and Sugars». (Edit. por W. McD. Armstrong y A. S. Nunn.) Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1971.
6. UMBREIT, W. W., BURRIS, R. H. y STAUFFER, J. H.: *Manometric Techniques* (3.^a edic.), Burgess Publ. Co., Minneapolis, 1957.
7. WILSON, T. H.: *J. Biol. Chem.*, **222**, 751, 1956.
8. WILSON, T. H. y WISEMAN, G.: *J. Physiol.*, **123**, 116, 1954.