

Efecto de varios aminoácidos sobre la absorción de azúcares por intestino delgado de rata, *in vivo*

J. Bolufer*, J. Larralde y F. Ponz

Departamento de Fisiología Animal
Universidad de Navarra
Pamplona (España)

(Recibido el 20 de febrero de 1974)

J. BOLUFER, J. LARRALDE and F. PONZ. *The Effect of Aminoacids on the Sugar Absorption by Rat Small Intestine*, *in vivo*. Rev. esp. Fisiol., 30, 111-118. 1974.

The effect of 20 mM L-leucine, L-glicine or L-arginine on the *in vivo* absorption of D-glucose and D-galactose (at concentrations 20, 4 and 2 mM) by rat small intestine has been studied.

The presence of the aminoacids significantly inhibits the absorption of sugars. The inhibitions are somewhat higher when the sugar is D-galactose, and the best time of absorption to show them is that of 5 minutes.

No relationship has been found between percent inhibition and initial sugar concentration.

La interacción entre la absorción intestinal de azúcares y aminoácidos ha sido objeto de numerosos trabajos en estos últimos años. En 1964, CIVIDANES *et al.* (7) revelaron la inhibición de la absorción de glucosa y glicina *in vivo* observando que existía una inhibición mutua. Estos resultados no fueron confirmados por BINGHAM *et al.* (4) que no encuentran inhibición en el transporte *in vivo* de aminoácidos en presencia de galactosa. Recientemente COOKE (8) ha encontrado interacción entre la absorción de azúcares y aminoácidos en el hombre.

Los estudios *in vitro* sobre este proble-

ma son muy numerosos, encontrándose inhibición tanto de azúcares sobre la absorción de aminoácidos (2, 9, 18) como de los aminoácidos sobre la absorción de azúcares (6, 10). Para explicar esta interacción se han propuesto varias teorías entre las que destacan la que explica este efecto por una estimulación en la salida del sustrato desde el interior de la célula (12, 17, 21) y la que postula un efecto alostérico sobre el sistema de transporte a nivel del borde en cepillo de las células epiteliales (1, 2, 6).

Sin embargo, la discrepancia existente en los resultados obtenidos *in vivo* no ha sido resuelta. Por eso en este trabajo se estudia el efecto de dos aminoácidos neutros: L-leucina y L-glicina y uno básico L-arginina, sobre la absorción de D-glu-

* Con una Beca de Iniciación a la Investigación del M.E.C.

cosa y D-galactosa por intestino delgado de rata *in vivo*.

Material y métodos

Se han utilizado ratas Wistar de ambos sexos, con un peso comprendido entre 150 y 200 g y sometidas a ayuno previo de 24 horas. Como anestésico se utilizó uretano 12,5 % por vía subcutánea a dosis de 1 ml/100 g de peso.

La técnica utilizada ha sido la de SOLS y PONZ (22), realizando cinco absorciones sucesivas en el mismo segmento de intestino, controlándose durante todo el experimento la temperatura rectal.

Las disoluciones con azúcar o con azúcar más aminoácido se hicieron con una solución de ClNa 0,9 %, haciéndose las oportunas correcciones para mantener la isotonicidad en todos los casos. Entre las

distintas absorciones se lavaba el asa intestinal con suero fisiológico.

La determinación de galactosa se hizo por el método colorimétrico de SOMOGYI (23) y de glucosa por el método enzimático de la glucosa-oxidasas (11).

Los resultados se expresan siempre en μM de azúcar absorbidos/cm de intestino.

Las concentraciones de azúcar utilizadas han sido de 2, 4 y 20 mM y las de los distintos aminoácidos fueron siempre de 20 mM. Los tiempos de absorción fueron de 5, 10 ó 20 minutos.

Resultados

Absorción intestinal de D-glucosa y D-galactosa. Se estudió inicialmente la absorción de glucosa y galactosa a diversas concentraciones, a lo largo de cinco períodos sucesivos de igual duración, aun-

Tabla I. *Absorción de galactosa o glucosa 2, 4 y 20 mM por intestino delgado de rata a lo largo de cinco períodos de absorción sucesivos de 5, 10 ó 20 minutos.*
Los valores medios se acompañan del error estándar. Entre paréntesis el número de animales.

Azúcar [mM]	Tiempo min	Absorción (μM azúcar/cm Intestino)				
		1.ª	2.ª	3.ª	4.ª	5.ª
Galactosa 2	5 (4)	0,14±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	0,14±0,01	0,14±0,01
	10 (4)	0,17±0,01	0,17±0,01	0,16±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01
	20 (4)	0,21±0,01	0,21±0,01	0,20±0,01	0,20±0,01	0,19±0,01
Galactosa 4	5 (5)	0,28±0,01	0,28±0,01	0,26±0,01	0,27±0,01	0,26±0,01
	10 (4)	0,38±0,01	0,36±0,02	0,38±0,01	0,37±0,01	0,36±0,01
	20 (4)	0,57±0,05	0,58±0,03	0,60±0,05	0,56±0,03	0,54±0,03
Galactosa 20	5 (4)	1,61±0,05	1,62±0,05	1,60±0,05	1,58±0,06	1,55±0,05
	10 (5)	2,02±0,13	2,00±0,05	2,05±0,06	2,02±0,05	2,01±0,07
	20 (4)	3,40±0,12	3,22±0,09	3,22±0,09	3,25±0,06	3,27±0,06
Glucosa 2	5 (4)	0,28±0,01	0,27±0,01	0,26±0,01	0,28±0,01	0,27±0,01
	10 (5)	0,42±0,03	0,40±0,03	0,40±0,02	0,38±0,02	0,42±0,01
	20 (4)	0,47±0,01	0,48±0,02	0,45±0,03	0,44±0,03	0,45±0,04
Glucosa 4	5 (5)	0,54±0,03	0,53±0,03	0,50±0,03	0,52±0,04	0,50±0,03
	10 (4)	0,68±0,07	0,63±0,05	0,60±0,09	0,64±0,05	0,59±0,05
	20 (4)	0,96±0,07	0,93±0,05	0,90±0,04	0,92±0,05	0,88±0,05
Glucosa 20	5 (4)	1,82±0,10	1,74±0,07	1,74±0,11	1,71±0,09	1,70±0,12
	10 (4)	2,09±0,06	2,02±0,08	1,95±0,03	1,98±0,07	1,93±0,05
	20 (4)	3,24±0,02	3,22±0,05	3,20±0,04	3,25±0,05	3,30±0,08

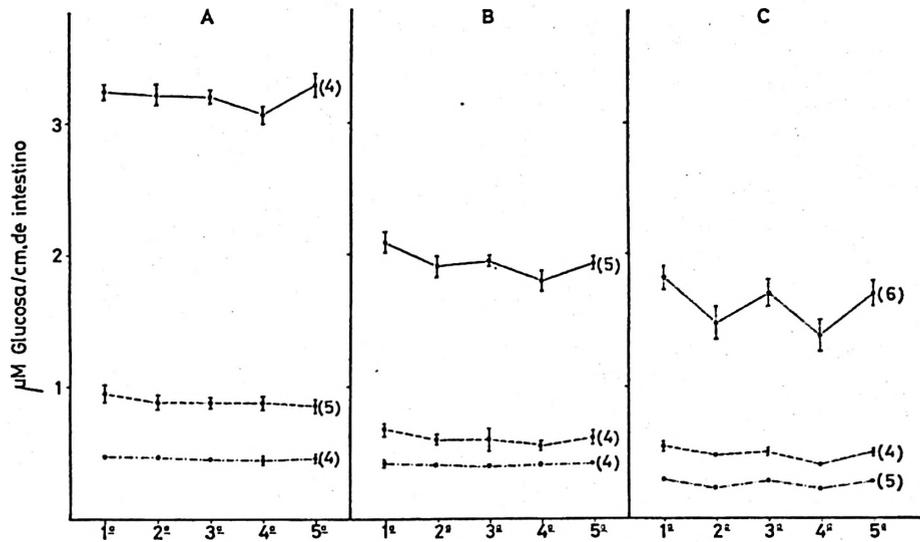


Fig. 1. Efecto de la L-leucina 20 mM sobre la absorción de diferentes concentraciones de D-glucosa en períodos de 20 (A), 10 (B) y 5 minutos (C). Las concentraciones de azúcar utilizadas han sido 20 mM (—), 4 mM (---) y 2 mM (.....). En abscisas se indican los cinco períodos de absorción sucesivos y en el segundo y cuarto está presente el aminoácido. En ordenadas se expresan los μM de glucosa absorbidos/cm de intestino. Los valores se acompañan del error estándar. Entre paréntesis el número de animales utilizados.

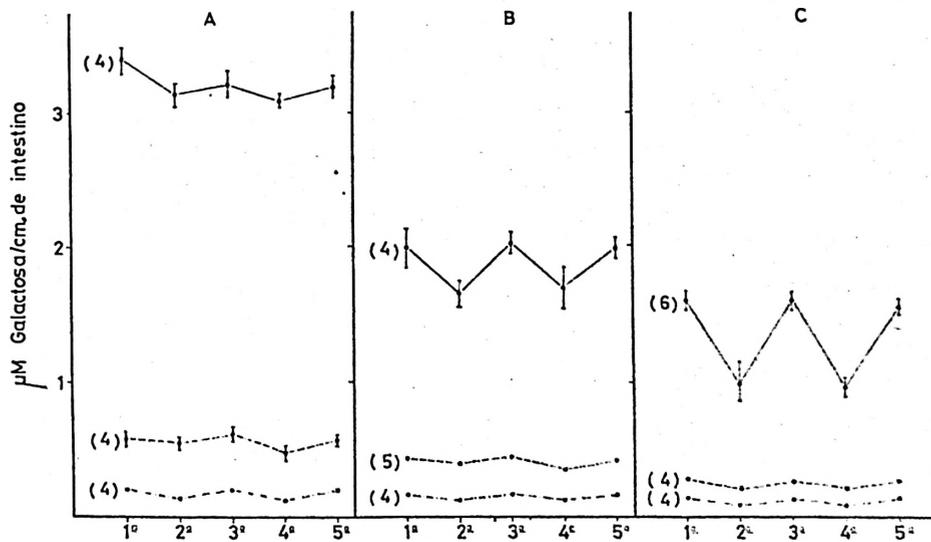


Fig. 2. Efecto de la L-leucina 20 mM sobre la absorción de D-galactosa. Los resultados se representan como en la figura 1.

que ésta era distinta (5, 10 ó 20 minutos) en diferentes grupos de animales. Se pudo así comprobar que el nivel de azúcar absorbido se mantenía constante a lo largo de los cinco períodos en todas las condiciones de concentración de azúcar y de tiempo de absorción (tabla I).

Efecto de la leucina. En esta serie de experimentos se utilizaron los períodos primero, tercero y quinto como controles, mientras que en el segundo y cuarto la solución de azúcar contenía también leucina a concentración de 20 mM. En la figura 1 se observa que en todas las condiciones utilizadas la leucina producía inhibición de la absorción de galactosa. Esta inhibición era reversible, puesto que en los períodos tercero y quinto se alcanzaban nuevamente niveles normales de absorción. Los valores máximos de inhibición se obtienen, para todas las concentraciones de D-galactosa utilizadas, con el período de absorción más corto. Comparando solamente las absorciones primera y segunda, con períodos de 5 minutos, las inhibiciones son del 36 % (galactosa 20 mM), 22 % (4 mM) y 38 % (2 mM). Con glucosa (fig. 2) se observa, en primer lugar, que sólo se obtienen inhibiciones significativas con tiempo de absorción de 5 minutos y aun en este caso son menores que con la galactosa. Comparando igualmente la primera y segunda absorciones, las inhibiciones son alrededor del 15 % para la concentración de azúcar 2 mM, 13 % para 4 mM y 19 % para 20 mM. Con tiempos de 10 y 20 minutos, las diferencias encontradas son muy pequeñas y no significativas.

Efecto de la glicina. Los experimentos se realizaron como en la experiencia anterior, pero sólo se utilizaron períodos de absorción de 5 minutos, que eran los que de manera más patente manifestaban el efecto inhibitorio del aminoácido. Se observa (figs. 3 y 4) que la glicina 20 mM in-

hibe la absorción tanto de glucosa como de galactosa a concentraciones de 2, 4 y 20 mM. Comparando la primera y segunda absorción, los valores de las inhibicio-

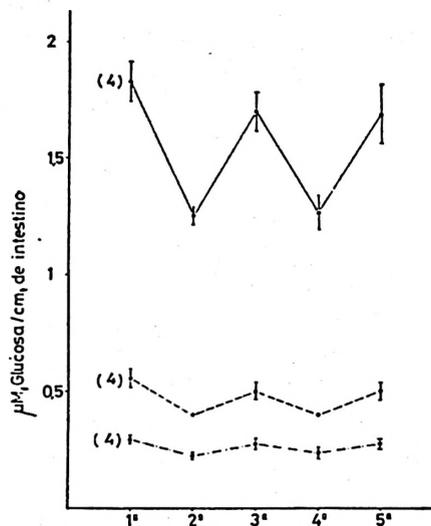


Fig. 3. Efecto de la L-glicina 20 mM sobre la absorción de D-glucosa a diferentes concentraciones en períodos de absorción de 5 minutos.

Los resultados se representan como en la fig. 1.

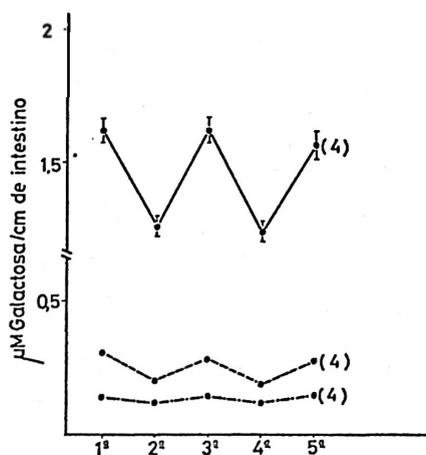


Fig. 4. Efecto de la L-glicina 20 mM sobre la absorción de D-galactosa a diferentes concentraciones en períodos de absorción de 5 minutos.

Los resultados se representan como en la fig. 1.

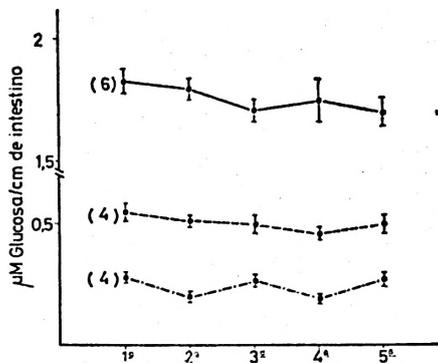


Fig. 5. Efecto de la L-arginina 20 mM sobre la absorción de D-glucosa a concentración 20, 4 y 2 mM en períodos de absorción de 5 minutos.

Los resultados se representan como en la fig. 1.

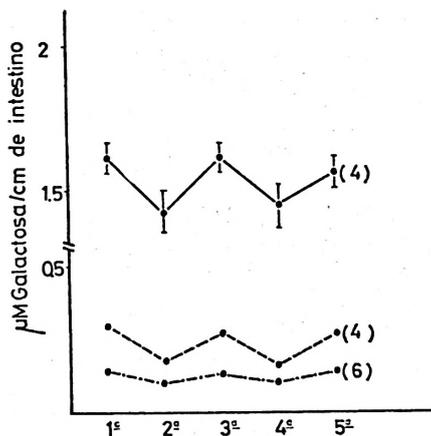


Fig. 6. Efecto de la L-arginina 20 mM sobre la absorción de D-galactosa a concentración 20, 4 y 2 mM en períodos de absorción de 5 minutos.

Los resultados se representan como en la fig. 1.

nes encontradas para la glucosa son alrededor del 18 % cuando la concentración del azúcar fue 2 mM, 26 % cuando fue 4 mM y 30 % cuando fue 20 mM. Para la galactosa las inhibiciones encontradas han sido: 15 % cuando la concentración de azúcar fue 2 mM, 30 % cuando fue 4 mM y 23 % cuando fue 20 mM.

Efecto de la arginina. Cuando utilizamos este aminoácido, por su carácter básico, fue necesario controlar y ajustar el pH de la solución a perfundir, lo que se realizó con ClH concentrado.

Como en los apartados anteriores, la solución con azúcar y aminoácido se ponía en los períodos de absorción segundo y cuarto, quedando los otros tres como controles. La arginina 20 mM inhibe la absorción de D-glucosa 2 mM (fig. 5), disminuyendo el azúcar absorbido en un 28 % aproximadamente, mientras que no tiene prácticamente efecto sobre la absorción de D-glucosa 4 y 20 mM. Sobre la absorción de D-galactosa (fig. 6), se observa que este aminoácido produce una inhibición alrededor del 28 % cuando la concentración del azúcar es 2 mM, del 39 % cuando es 4 mM y del 11 % cuando es 20 mM.

Discusión

De nuestros resultados se pueden extraer las siguientes observaciones: a) la absorción de glucosa o de galactosa es inhibida por la presencia simultánea de los aminoácidos glicina, leucina y arginina, efecto que es algo más patente con la galactosa; b) esta inhibición es mayor cuanto más corto es el tiempo de absorción; c) en la mayoría de los casos el grado de inhibición producida por los aminoácidos a concentración 20 mM no guarda relación con la concentración del azúcar en el líquido de perfusión.

Varias hipótesis han sido propuestas para explicar esta interacción entre azúcares y aminoácidos. La formación de metabolitos tóxicos (20) ha sido desechada por varios autores (3, 19); además, en nuestras condiciones experimentales *in vivo*, no se dan algunas posibles deficiencias de las técnicas *in vitro*, como un inadecuado clearance (14) del espacio subepitelial para los metabolitos y sustancias transportadas y quizás una falta de disponibilidad de oxígeno (15). Por otra

parte, la técnica de absorciones sucesivas permite observar que en los períodos tercero y quinto, después de otros con aminoácido presente en el líquido de perfusión, los niveles de absorción son de nuevo normales.

La propuesta por NEWY y SMYTH (16) sugiere que los aminoácidos y azúcares activamente transportados compiten por una fuente común de energía disminuyendo la disponibilidad del ATP. Esta explicación no está de acuerdo con otros resultados (1, 9, 10). Los aportados en el presente trabajo tampoco concuerdan con esta teoría, ya que en el animal vivo se mantiene el riego sanguíneo del asa intestinal durante todo el experimento y además la absorción de glucosa, que es una excelente fuente de energía, también es inhibida por los tres aminoácidos utilizados, aunque en menor proporción que la de galactosa.

Utilizando técnicas *in vitro* varios autores han observado que el transporte de galactosa provoca una disminución intracelular de K^+ (5) y un aumento en la concentración de Na^+ (12). Esta alteración de los gradientes iónicos podría explicar las influencias de los azúcares sobre el transporte de aminoácidos (13). En las condiciones *in vivo* descritas en este trabajo, el intestino por su parte mucosal está en contacto con una solución fisiológica de cloruro sódico y por su parte serosal con el medio interno, lo que puede hacer menos importantes las variaciones del gradiente iónico.

Otra hipótesis sugerida por ALVARADO (1), es la de que los azúcares y aminoácidos pueden unirse a un mismo transportador polifuncional común para ellos y el sodio, provocando interacciones alostéricas responsables de las inhibiciones observadas. Esta hipótesis ha sido recientemente apoyada por ROBINSON *et al.* (19) con diferentes especies de mamíferos. Sin embargo, según esta hipótesis, se debería esperar una inhibición menor conforme fuese mayor la concentración de azúcar uti-

lizada, lo que en general no ocurre en nuestros experimentos. Es cierto, no obstante, que en las condiciones de trabajo adoptadas, salvo para la absorción de glucosa 2 mM, las concentraciones de azúcar en sangre son siempre más bajas que en la luz, factor que puede influir en los resultados.

El mejor tiempo para observar la interacción entre estos dos grupos de sustancias es sin duda el más corto de los utilizados, es decir, el de 5 minutos. Esto puede ser debido a que el volumen de líquido que llena el asa intestinal es pequeño, por lo que disminuye rápidamente la concentración de azúcar en la luz y, por tanto, la velocidad de absorción no es lineal. Otro factor que puede influir en este resultado es el hecho de que el aminoácido también se absorbe, disminuyendo con el tiempo su concentración en el líquido de perfusión y, por lo tanto, su capacidad de interacción.

Resumen

Se estudia el efecto de los aminoácidos L-leucina, L-glicina o L-arginina 20 mM, sobre la absorción *in vivo* de D-glucosa y D-galactosa por intestino de rata a diferentes concentraciones (20, 4 y 2 mM) y con diferentes tiempos de absorción (20, 10 y 5 minutos).

La presencia de los aminoácidos inhibe significativamente la absorción de azúcares. Las inhibiciones son en general algo mayores cuando el azúcar es la galactosa y se aprecian mucho mejor con los tiempos de absorción más cortos (5 minutos). No se ha revelado relación entre el grado de inhibición y las concentraciones de azúcares utilizadas.

Bibliografía

1. ALVARADO, F.: *Science*, 151, 1010, 1966.
2. ALVARADO, F.: *Nature*, 219, 276, 1968.
3. ALVARADO, F.: *Amer. J. Clin. Nutr.*, 23, 824, 1970.
4. BINGHAM, J. K., NEWY, H. y SMYTH, D. H.: *Biochim. Biophys. Acta*, 130, 281, 1966.

5. BROWN, M. M. y PARSONS, D. S.: *Biochim. Biophys. Acta*, **59**, 249, 1962.
6. CASEY, M. G. y VANNOTTI, A.: *Amer. J. Prectol.*, **20**, 64, 1969.
7. CIVIDANES, L., LARRALDE, J. y BELLO, J.: *Rev. Esp. Fisiol.*, **20**, 11, 1964.
8. COOKE, G. C.: *J. Physiol.*, **217**, 61, 1971.
9. CHEZ, R. A., SCHULTZ, S. G. y CURRAN, P. F.: *Science*, **153**, 1012, 1966.
10. HINDMARSH, J. T., KILBY, D. y WISEMAN, G.: *J. Physiol.*, **186**, 166, 1966.
11. KESTON, A. S.: *Abstr. Amer. Chem. Soc.*, **129**, 31 C, 1956.
12. KOOPMAN, W. y SCHULTZ, S. G.: *Biochim. Biophys. Acta* **173**, 338, 1969.
13. MUNCK, B. G.: *Biochim. Biophys. Acta*, **200**, 639, 1972.
14. MUNCK, B. G., BURLAND, W. L. y SAMEL, P. D.: En «Transport across the intestine» Churchill, London, 1972, p. 127.
15. MUNCK, B. G.: *J. Physiol.*, **223**, 699, 1972.
16. NEWEY, H. y SMYTH, D. H.: *Nature*, **202**, 400, 1964.
17. READ, C. P.: *Biol. Bull.*, **133**, 630, 1967.
18. REISER, S. y CHRISTIANSEN, P. A.: *Amer. J. Physiol.*, **216**, 915, 1969.
19. ROBINSON, J. W. L. y ALVARADO, F.: *Pflügers Arch.*, **326**, 48, 1971.
20. SAUNDERS, S. J. y ISSELBACHER, K. J.: *Biochim. Biophys. Acta*, **102**, 397, 1965.
21. SCHULTZ, S. G. y CURRAN, P. F.: *Physiol. Rev.*, **50**, 637, 1970.
22. SOLS, A. y PONZ, F.: *Rev. esp. Fisiol.*, **3**, 207, 1947.
23. SOMOGYI, M.: *J. Biol. Chem.*, **96**, 19, 1952.

