

Efectos de la neomicina sobre el transporte de azúcares por el intestino delgado de rata y hamster

S. Rull* y F. Ponz

Departamento de Fisiología Animal **
Facultad de Ciencias
Universidad de Navarra
Pamplona (España)

(Recibido el 4 de abril de 1974)

S. RULL and F. PONZ. *Effects of Neomicine on the Transport of Sugars by Rat and Hamster Small Intestine*. Rev. esp. Fisiol., 30, 183-190. 1974.

The *in vivo* absorption of 2.77 mM galactose or 50 mM arabinose by the small intestine of rat strongly increases when neomicine (6 or 18 mM) is present in the luminal solution. Neomicine, at 6 mM, also increases the absorption of 2.77 mM glucose. These effects dissapear by washing the intestine with saline. However, 18 mM neomicine obviously inhibits the glucose absorption, persisting the inhibition after removing the antibiotic by washing.

The presence of neomicine in the intestinal lumen produces apparent morphological alterations in rat, changes which were not observed in hamster.

The active transport of glucose or galactose by everted sacs of rat intestine or the accumulation of these sugars by intestinal rings of hamster were not significantly modified by neomicine in the medium.

The increases of sugar absorption in the rat *in vivo* are attributed to a reversible interaction of neomicine with luminal membrane constituents, different from the transport systems, leading to a greater permeability.

La absorción intestinal de determinados azúcares puede verificarse con utilización de sistemas específicos de transporte que permiten la entrada en las células epiteliales contra gradiente de concentración y su ulterior paso a la sangre; con otros azúcares la penetración sólo parece realizarse por simple difusión a favor de

gradiente. Numerosas sustancias pueden influir en la absorción debido a sus efectos en la membrana o en el interior de las células mediante muy diversos mecanismos cuya naturaleza, cuando llega a conocerse, ilustra acerca de la acción biológica de las referidas sustancias y sobre las características de los procesos de transporte.

Entre los antibióticos que se administran por vía oral y que pueden influir en la absorción, la neomicina ofrece particu-

* Con una Beca del Plan de Formación de Personal Investigador del M.E.C.

** Centro Coordinado con el C.S.I.C.

lar interés debido a que, por ser prácticamente nula su absorción digestiva, constituye el tratamiento de elección en múltiples afecciones del tracto gastrointestinal y porque es una observación clínica frecuente la malabsorción que conlleva su empleo. Los efectos de la neomicina sobre la absorción intestinal han sido estudiados en humanos (6-8, 16) y en animales, tanto con técnica *in vivo* (1) como *in vitro* (10, 11, 20, 26), con resultados discrepantes, quizá por diferencias de especie animal o de condiciones experimentales.

En este trabajo se muestran los efectos de la neomicina sobre la absorción intestinal cuando está presente a diferentes concentraciones en las soluciones de azúcares, *in vivo* o *in vitro*, en rata y en hamster. Los resultados han revelado claras diferencias según la naturaleza del azúcar, la especie animal, la concentración del antibiótico y la técnica de trabajo.

Material y métodos

Se han utilizado ratas blancas Wistar de ambos sexos, de unos 200 g de peso, y hamsters dorados (*M. auratus*), también de ambos sexos, con peso entre 90 y 130 gramos.

La técnica utilizada para el estudio de la absorción *in vivo* ha sido la de absorciones sucesivas de SOLS y PONZ (21). Los azúcares se disolvían en suero fisiológico. Los resultados correspondientes al primer período (control) se expresan en micromoles de azúcar absorbido por centímetro de intestino (25) y los de los tres períodos siguientes se dan como diferencias porcentuales (exaltación o inhibición) con respecto al primero. La expresión estadística se ha hecho según PONZ y LLUCH (17) dando los valores medios con su error estándar, y la significación de las diferencias por el método de Student.

Las técnicas *in vitro* han sido las de CRANE y MANDELSTAM (2), con anillos de intestino delgado de hamster, y la de

WILSON y WISEMAN (27), con sacos invertidos de intestino delgado de rata, en suspensión en medio Krebs-Henseleit-bicarbonato (9).

El consumo de oxígeno por intestino de rata y el efecto de la neomicina sobre éste se han estudiado por el método de Warburg, en solución Krebs-Ringer tamponada con Tris-ClH (13, 24).

La determinación de los azúcares se ha hecho por el procedimiento de Nelson-Somogyi (15, 22).

El examen histológico del intestino delgado de rata y hamster, después de los experimentos *in vivo*, se ha hecho con tinción PAS (12).

Se ha empleado la neomicina en su forma base con objeto de evitar los acompañantes habituales que contiene el sulfato. Su fórmula es $C_{23}H_{46}N_6O_{13}$, con un peso molecular de 614.

Resultados

ABSORCIÓN *in vivo* EN RATA

Absorción de glucosa 2,77 mM. En los experimentos de absorción de glucosa, la neomicina se dispuso a concentraciones 18 mM, 6 mM, 1,5 mM y 0,8 mM. De los cuatro períodos sucesivos de absorción, el primero y tercero se realizaban en ausencia de neomicina y el segundo y cuarto con el antibiótico adicionado a la solución de azúcar.

Se observó (tabla I) una acentuada inhibición de la absorción de glucosa en presencia de neomicina 18 mM en segundo (28,9 %) y cuarto (32,3 %) períodos de absorción, respecto de la absorción control en el primer período. En el tercero, a pesar de haberse lavado abundantemente el intestino antes de iniciarlo para eliminar la posible neomicina residual del segundo período, persistía un cierto grado de inhibición (21,5 %). Parece así que parte de la neomicina quede fijada al tejido en forma no separable por lavado o que su presencia durante el segundo pe-

riodo haya producido en las células alteraciones duraderas que dificulten el transporte activo de glucosa en el período siguiente.

Con neomicina 6 mM el efecto es de signo contrario, produciéndose un claro aumento de la absorción de glucosa tanto en el segundo período (23 %) como en el cuarto (18,1 %); en el tercer período, previo lavado del asa intestinal con suero fisiológico, la absorción era normal. Esto revela que a esta concentración más baja la acción del antibiótico queda limitada al tiempo en que la neomicina está presente en la solución de azúcar y es reversible por simple lavado del intestino.

La neomicina 1,5 mM o 0,8 mM no ejerce ya influencias apreciables sobre la absorción de glucosa.

En un grupo de animales se prepararon dos asas intestinales contiguas, disponiendo en una de ellas solución de glucosa sin neomicina durante los cuatro períodos de absorción y en la otra, en períodos alternos simultáneos a los anteriores, suero fisiológico sin neomicina (1.º y 3.º) o con

neomicina (2.º y 4.º). La absorción de glucosa no se modificó en estas condiciones, lo que indica que la neomicina sólo actúa localmente, en el propio segmento de intestino en que se absorbe el azúcar.

Absorción de galactosa 2,77 mM. Con neomicina 18 mM se observa (tabla I) una marcada exaltación de la absorción de galactosa, tanto en el segundo período (60,7 %) como en el cuarto (44,4 %). Casi siempre el incremento era mayor cuando por primera vez estaba presente la neomicina en la solución a absorber (segundo período) que cuando lo está por segunda vez (cuarto período), después de otro de absorción sin el antibiótico. En el tercer período, en ausencia de neomicina y previo lavado abundante del asa intestinal, la galactosa se absorbía en proporción similar a como en el primer período (control).

Al disminuir la concentración de neomicina a 6 mM, se siguió observando la exaltación de la absorción de galactosa en presencia del antibiótico, aunque en

Tabla I. Efecto de la neomicina sobre la absorción in vivo de glucosa o galactosa por intestino delgado de rata.

Absorciones sucesivas de 20 minutos. Azúcar en solución isotónica de ClNa. Neomicina en segunda y cuarta absorciones.

Azúcar	N.º de animales	Neomicina [mM]	1.ª Abs. $\mu\text{moles/cm}$	Variación % en absorciones sucesivas		
				2.ª Abs.	3.ª Abs.	4.ª Abs.
Glucosa (2,77 mM)	18	18	$0,39 \pm 0,01$	$-28,9 \pm 2,5$ $P < 0,001$	$-21,5 \pm 2,9$ $P < 0,001$	$-32,3 \pm 2,6$ $P < 0,001$
	8	6	$0,37 \pm 0,02$	$23,0 \pm 6,1$ $P < 0,01$	$-3,75 \pm 3,5$ N.S.	$18,1 \pm 3,6$ $P < 0,01$
	6	1,5	$0,36 \pm 0,02$	$-2,5 \pm 3,1$ N.S.	$-3,3 \pm 3,5$ N.S.	$-2,2 \pm 2,8$ N.S.
	6	0,8	$0,36 \pm 0,03$	$1,8 \pm 1,5$ N.S.	$0,5 \pm 1,3$ N.S.	$1,2 \pm 2,0$ N.S.
Galactosa (2,77 mM)	15	18	$0,29 \pm 0,02$	$60,7 \pm 9,3$ $P < 0,001$	$-8,3 \pm 6,7$ N.S.	$44,4 \pm 9,6$ $P < 0,001$
	9	6	$0,32 \pm 0,02$	$39,1 \pm 5,3$ $P < 0,001$	$8,8 \pm 6,8$ N.S.	$20,1 \pm 7,3$ $P < 0,05$
	6	1,5	$0,24 \pm 0,01$	$6,0 \pm 7,6$ N.S.	$-6,3 \pm 8,7$ N.S.	$5,5 \pm 11,6$ N.S.

grado menos acentuado. La neomicina 1,5 mM carecía de efecto.

Absorción de arabinosa 50 mM. Tanto la glucosa como la galactosa pueden absorberse por transporte activo. Para ver el efecto de la neomicina sobre azúcares que se absorben aparentemente por simple difusión, se ha utilizado la D-arabinosa, que es muy lentamente absorbida. La duración de cada período de absorción ha sido de una hora y la concentración del azúcar era 50 mM.

En estas condiciones el gradiente de difusión era suficiente para que en una hora desaparecieran del intestino cantidades de arabinosa bien determinables. Con este azúcar ha sido observado repetidamente (18) que a lo largo de una serie de absorciones sucesivas la cantidad de azúcar absorbido es sólo constante a partir del segundo período, mientras que en la primera hora la absorción es mayor. Por esta razón se toma como absorción control la correspondiente al segundo período, la neomicina está presente únicamente durante el tercero y se realiza el cuarto de nuevo sin neomicina.

Como puede observarse en la tabla II, la presencia de neomicina 18 mM estimuló altamente la absorción de arabinosa, efecto que desaparecía en gran parte al lavar abundantemente el asa intestinal con suero fisiológico (cuarto período).

Tabla II. *Efecto de la neomicina 18 mM sobre la absorción in vivo de arabinosa 50 mM por intestino delgado de rata.*

Absorciones sucesivas de 60 minutos. El azúcar disuelto en solución isotónica de ClNa. Neomicina sólo en tercera absorción.

N.º de animales	2.ª Abs. μmoles/cm	Absorciones sucesivas (variación %)	
		3.ª Abs.	4.ª Abs.
10	0,06 ± 0,009	276,3 ± 32,3 P < 0,001	51,5 ± 15,9 P < 0,01

ABSORCIÓN *in vivo* EN HAMSTER

Se ha ensayado únicamente la acción de la concentración más alta de neomicina (18 mM) sobre la absorción de glucosa 2,77 mM.

A diferencia de la clara inhibición observada en rata en esas mismas condiciones, la presencia de neomicina en el segundo y en el cuarto período no produjo en hamster cambios significativos sobre la absorción de glucosa que resultó ser de $0,66 \pm 0,01$ μmoles/cm de intestino.

ALTERACIONES HISTOLÓGICAS

En la rata, la presencia de neomicina a concentración 18 mM en segundo y cuarto períodos de absorción, ha producido importantes cambios histológicos (fig. 1, A). Las vellosidades se hallan muy aplanadas, el epitelio que las reviste ha perdido altura y está menos diferenciado. En el estroma existe una intensa infiltración de células plasmáticas y linfocitos. En la luz se encuentra gran cantidad de células epiteliales descamadas. Este cuadro histológico es superponible al que se observa ya después del tercer período de absorción, con sólo uno en presencia de neomicina 18 mM.

Con neomicina 6 mM siguen observándose imágenes histológicas con el mismo tipo de alteraciones que las descritas, aunque menos acentuadas (fig. 1, B).

En hamster, en cambio, incluso con concentraciones altas de neomicina (18 mM) sólo se observan alteraciones histológicas muy discretas (fig. 1, C): las vellosidades están bien conservadas, aunque ligeramente aplanadas, y la luz intestinal se halla prácticamente libre de células.

EFFECTOS *in vitro*

Se ensayó el efecto del antibiótico sobre el transporte activo de glucosa y galactosa por sacos de intestino invertido de rata (5 mM en mucosal y serosal) y

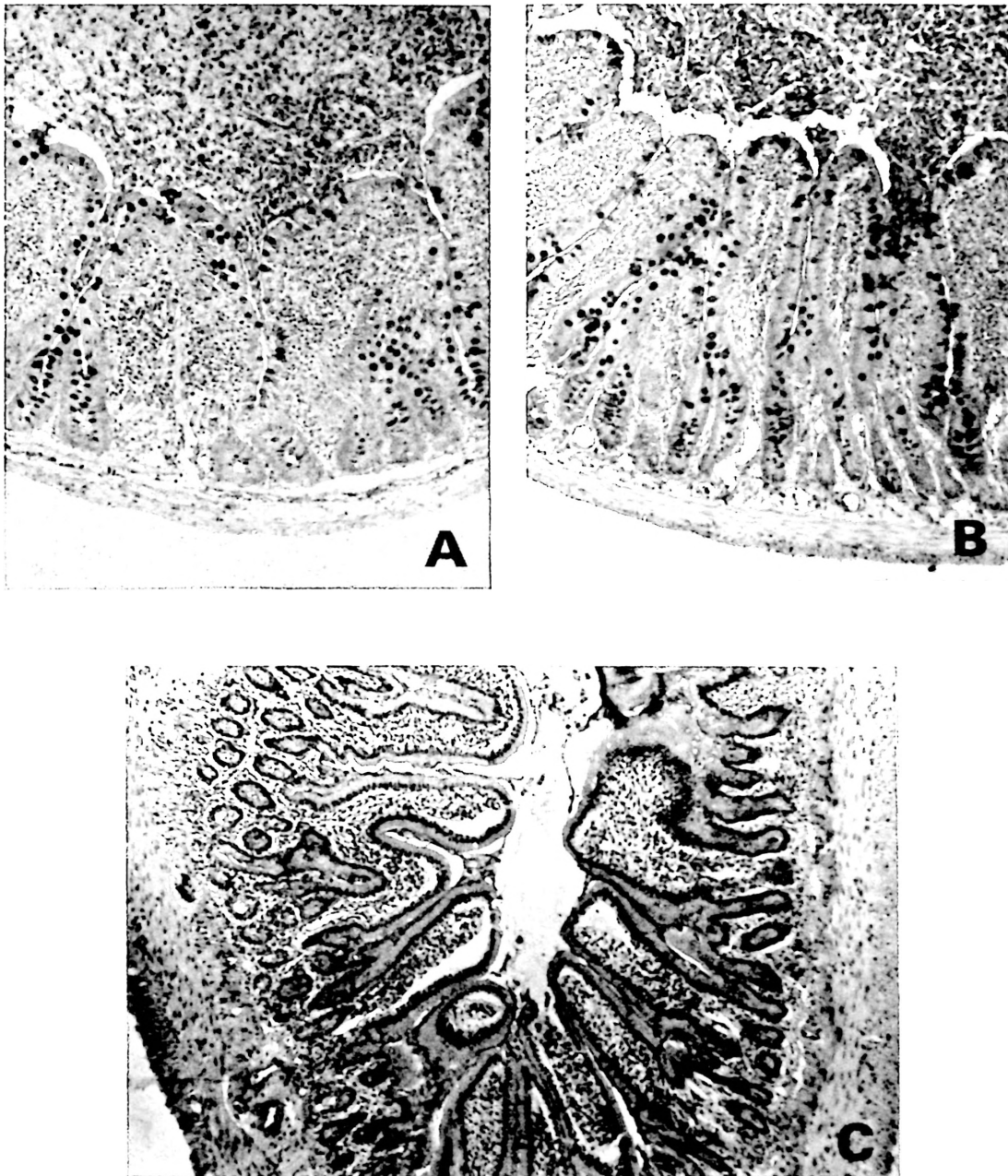


Fig. 1. Corte de intestino delgado después de los experimentos de absorción de azúcares con neomicina. Tinción de P.A.S. (obj. $\times 10$).
A, rata, neomicina 18 mM. B, rata, neomicina 6 mM. C. hamster, neomicina 18 mM.

por anillos intestinales de hamster (glucosa o galactosa 5 mM en el medio).

En estas condiciones experimentales la neomicina no ha dado lugar a diferencias significativas en los gradientes producidos.

Tampoco se han observado modificaciones del consumo de oxígeno de anillos intestinales de rata incubados (60 minutos) en medio salino con o sin glucosa 2,77 mM, por la presencia de neomicina.

Discusión

Los anteriores resultados revelan que *in vivo* la presencia de neomicina a concentración 6 ó 18 mM en la solución de azúcar a absorber produce en rata aumento de la absorción de galactosa, mayor con la más alta concentración del antibiótico. La neomicina 18 mM aumenta también, y muy considerablemente, la absorción de arabinosa 50 mM. Estos aumentos de absorción se dan asimismo con la glucosa, pero únicamente con neomicina 6 mM, ya que al pasar a 18 mM se produce el efecto contrario, es decir, inhibición de la absorción.

Todos los aumentos de absorción se deben a la presencia de la neomicina en el mismo segmento de intestino en el que se absorbe el azúcar y no aparecen cuando el antibiótico está en un segmento contiguo. Han de atribuirse por tanto a una acción de la neomicina sobre el epitelio absorbente. Además, sólo se producen en tanto la neomicina acompaña a la solución de azúcar, desapareciendo casi por completo si mediante lavados suficientes se arrastra esta sustancia antes de proceder a otro período de absorción sin neomicina.

Estas propiedades y la escasa o nula penetración de la neomicina en las células, hacen pensar en que esta sustancia debe establecer interacciones con componentes de la membrana luminal de las células epiteliales que conducen a que aumente su permeabilidad a los azúcares, interpretación dada también por otros

autores (1, 11, 19). El hecho de que esto se produzca con azúcares activamente transportados (glucosa, galactosa) y con los que no lo son (arabinosa), manifiesta que dicha acción no se ejerce sobre el sistema de transporte, sino que es de características más generales e inespecíficas. En todo caso, la unión entre la neomicina y la membrana debe ser fácilmente reversible por cuanto el lavado con suero fisiológico restaura en gran parte la permeabilidad normal del epitelio.

Resulta sorprendente que la neomicina 18 mM inhiba la absorción de glucosa 2,77 mM, en lugar de aumentarla como ocurre con la galactosa o la arabinosa. Hay un cambio de signo del efecto del antibiótico sobre la absorción de glucosa al pasar la concentración de neomicina de 6 mM, que provoca aumento como con los otros azúcares, a la de 18 mM que resulta inhibidora. Alguna observación anterior en condiciones algo similares (1) había mostrado ya que ciertas concentraciones de neomicina estimulaban la absorción de glucosa en la rata mientras que otras más altas producían inhibición.

Para explicar este resultado se ha de tener en cuenta que la inhibición de la absorción de glucosa por neomicina 18 mM persiste casi en igual cuantía en un período sucesivo de absorción en ausencia de neomicina. Hay que deducir que la neomicina a concentración alta (18 mM), aunque aumente la permeabilidad del epitelio a los azúcares, debe provocar también algún otro efecto poco reversible que conduce a la disminución de la glucosa absorbida. Se carece de base experimental suficiente para sugerir una interpretación; no obstante, entre la absorción de glucosa y la de galactosa hay algunas diferencias.

En intestino de rata *in vivo* la glucosa es activamente transportada tanto hacia el interior de la célula como hacia la sangre, donde su concentración es mayor que en la solución mucosal. Por el contrario, aun cuando la galactosa puede entrar en

el epitelio contra gradiente y utilizar el mismo sistema de transporte que la glucosa, su paso *in vivo* a la sangre es a favor de gradiente. Otra diferencia es que la glucosa se metaboliza muy bien en el epitelio siendo buena fuente de energía y en cambio la galactosa sólo se metaboliza en muy escasa proporción.

La presencia de neomicina durante uno o dos períodos de absorción produce diversas alteraciones morfológicas del epitelio intestinal de la rata, con fuerte descamación, aplanamiento de las vellosidades e infiltración inflamatoria de la lámina propia. La intensidad de estas alteraciones depende de la concentración de neomicina y no se influye por la presencia simultánea de glucosa o de galactosa en la solución mucosal. El carácter reversible del aumento de absorción debido al antibiótico indica, no obstante, que las referidas alteraciones morfológicas no guardan relación con el incremento de permeabilidad del epitelio.

En los experimentos en sacos de intestino de rata *in vitro*, la neomicina 6 ó 18 mM no ha mostrado acción sobre el transporte activo de glucosa ni de galactosa. Como la concentración de azúcar era la misma en los compartimientos mucosal y serosal, un aumento inespecífico de la permeabilidad no puede ser detectable en tales condiciones. La cuantía de la inhibición de la absorción de glucosa *in vivo* con neomicina 18 mM (30 %) no es por otra parte suficientemente alta para que se manifieste fácilmente con significación estadística *in vitro* (14). Entre los experimentos en unas y otras condiciones hay además bastantes diferencias (4, 5, 23).

El hamster parece ser mucho más resistente a la acción de la neomicina. *In vivo*, a concentración de 18 mM, no afecta a la absorción de glucosa ni provoca cambios histológicos. *In vitro*, con preparados de anillos de intestino, no se han apreciado influencias de la neomicina 6 ó 18 mM sobre la acumulación de glucosa o de galactosa.

Estas diferencias entre la susceptibilidad del epitelio digestivo a la neomicina entre rata y hamster son un ejemplo más de la especificidad de especie que es frecuente en la acción de antibióticos y de otras sustancias biológicamente activas (1, 3, 8, 20).

Resumen

La absorción *in vivo* de galactosa 2,77 mM o de arabinosa 50 mM por el intestino delgado de rata aumenta en presencia de neomicina 6 ó 18 mM. Este efecto es reversible por lavado del intestino. La misma acción ejerce la neomicina 6 mM sobre la absorción de glucosa 2,77 mM; en cambio, con neomicina 18 mM se produce clara inhibición de la absorción de este azúcar, que no es reversible por lavado. En hamster, *in vivo*, la neomicina 18 mM no influye en la absorción de glucosa.

La presencia de neomicina en el intestino delgado de la rata produce manifestas alteraciones morfológicas, lo que no ocurre en el intestino de hamster.

No han podido observarse efectos significativos de la neomicina sobre el transporte activo de glucosa o galactosa por sacos intestinales de rata, ni sobre la acumulación de estos mismos azúcares en anillos de intestino de hamster.

Los aumentos de absorción de azúcares en rata *in vivo* se atribuyen a una acción de la neomicina sobre la membrana luminal que aumentaría la permeabilidad con independencia de los sistemas de transporte.

Bibliografía

1. BROITMAN, S. A., FLINT, D. y ZAMCHECK, N.: *J. Lab. Clin. Med.*, **70**, 9, 1967.
2. CRANE, R. K. y MANDELSTAM, P.: *Biochim. Biophys. Acta*, **45**, 460, 1960.
3. DOBBINS, W. O., HERRERO, B. A. y MANSBACH, C. A.: *Am. J. Med. Sci.*, **255**, 63, 1968.
4. FÖRSTER, H.: En «Na-linked transport of organic solutes» (Ed. Heinz, E.). Springer Verlag, Stuttgart, 1972, p. 134-139.
5. FÖRSTER, H. y MENZEL, B.: *Z. Ernährungswiss.*, **11**, 24, 1972.
6. FALOON, W. W., SEARL, P., RUBERT, M.

- y PAES, I. C.: *Am. Soc. Clin. Invest.*, **58**, 133, 1966.
7. HVIDT, S. y KJELSEN, K.: *Acta Med. Scandinav.*, **173**, 699, 1963.
8. JACOBSON, E. D., CHODOS, R. B. y FALLOON, W. W.: *Amer. J. Med.*, **28**, 524, 1960.
9. KREBS, H. A. y HENSELEIT, Z.: *Fisiol. Chem. Hoppe Syders*, **210**, 23, 1932.
10. MADGE, D. S.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **30**, 295, 1969.
11. MADGE, D. S.: *Br. J. Nutr.*, **23**, 637, 1969.
12. MCMANUS, J. P. A. y MOURY, R. W.: En «Técnica histológica». Ed. Atica. Madrid, 1968.
13. MICHAELIS, I.: *J. Biol. Chem.*, **87**, 33, 1930.
14. NADAL, J. y PONZ, F.: *Rev. esp. Fisiol.*, **21**, 71, 1965.
15. NELSON, M.: *J. Biol. Chem.*, **153**, 375, 1944.
16. PAES, I. C., SEARL, P., RUBERT, M. W. y FALLOON, W. W.: *Gastroenterology*, **53**, 49, 1967.
17. PONZ, F. y LLUCH, M.: *Rev. esp. Fisiol.*, **18**, 123, 1962.
18. PONZ, F. y LLUCH, M.: *Rev. esp. Fisiol.*, **16**, 321, 1960.
19. ROGERS, A. I., BACHORIK, P. S. y NUNN, A. S.: *Digestion*, **1**, 159, 1968.
20. SMALL, M. D., FOLEN, V., ABRAMS, G., BLEDSOE, F. y NORRIS, H. T.: *Amer. J. Dig. Dis.*, **11**, 923, 1966.
21. SOLS, A. y PONZ, F.: *Rev. esp. Fisiol.*, **3**, 207, 1947.
22. SOMOGYI, M.: *J. Biol. Chem.*, **96**, 19, 1952.
23. SMYTH, D. H.: *Proc. Roy. Soc. Med.*, **54**, 769, 1961.
24. UMBREIT, W. W., BURRIS, L. y STANFFEN, M.: *Manometric Techniques*. Burgess, Publ. Co., Minneapolis, 1959.
25. VIDAL-SIVILLA, S., SOLS, A. y PONZ, F.: *Rev. esp. Fisiol.*, **6**, 195, 1950.
26. WAITZOVÁ, D., KUBAT, A., MELICHAROVA, M. y KOLDOVSKY, O.: *Physiol. Bohemoslov.*, **20**, 11, 1971.
27. WILSON, T. H. y WISEMAN, G.: *J. Physiol.*, **123**, 116, 1954.