

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica
Laboratorio de Fisiología Animal
Universidad
Santiago de Compostela

Inhibición de la absorción intestinal de glucosa por el ion potasio *

por
J. Larralde, J. Bello y P. Fernández-Otero

(Recibido para publicar el 18 de marzo de 1962)

El estudio de activadores o inhibidores de la absorción intestinal constituye un paso importante en la interpretación del mecanismo del transporte activo. Se ha demostrado que numerosos iones metálicos y otras sustancias, que poseen superficies iónicas activas, tienen efectos definidos sobre la mucosa gastrointestinal.

Desde los trabajos de GELLHORN (6) y GARDNER (5), se ha venido considerando al ion potasio como un activador de la absorción intestinal de la glucosa. Recientemente, RIKLIS y QUASTEL (11) han corroborado el papel activador del potasio sobre la absorción de la glucosa en aquellas preparaciones intestinales *in vitro*, donde el ion se encuentra presente a bajas concentraciones aunque pasa a ser inhibidor a medida que aumenta su concentración.

Dado que no existe una interpretación clara que justifique este doble efecto, nos ha parecido interesante, de acuerdo con anteriores trabajos nuestros (7, 8 y 9), estudiar la influencia que el ion potasio pueda ejercer sobre la absorción *in vivo* de la glucosa por el intestino delgado de rata.

(*) Este trabajo ha sido realizado merced a la beca concedida por los Laboratorios IVEN, cuya ayuda económica agradecemos. También expresamos nuestra gratitud a la señorita Esther Durán por su valiosa cooperación técnica.

Material y métodos

Se utilizan ratas blancas, de peso comprendido entre 120 y 200 gr, anestesiadas con solución de etiluretano al 12 % en la proporción de 1 ml por cada 100 gr de peso.

Se sigue la técnica de absorciones sucesivas, descrita por SOLS y PONZ (12), con presión de repleción de 12 cm de agua y asas intestinales de 15 a 30 cm de longitud fisiológica. La temperatura de los animales se mantuvo constante, de manera que no sufriera oscilaciones superiores a $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. En algunas experiencias se empleó la técnica de doble asa, aislando dos segmentos en el intestino delgado, uno al comienzo del yeyuno donde se coloca la solución de azúcar a absorber, y otra más distal, en el que se pone la solución del catión.

Las concentraciones de glucosa empleadas fueron de 20, 40, 75 y 150 mM, y las de potasio de 6, 15, 30, 60 y 77 miliequivalentes por litro.

La glucosa se determinó por el método fotolorimétrico de NELSON-SOMOGYI (10), y su absorción se expresa en micromoles absorbidos por cm de intestino, referidos a períodos de absorción de treinta minutos de duración.

Resultados

Nuestros resultados se recogen en las tablas que siguen donde expresamos la intensidad en micromoles por cm de la primera absorción intestinal de glucosa, considerada como normal, y el tanto por ciento de inhibición (o incremento) obtenido en las siguientes absorciones sucesivas con respecto a la absorción normal de glucosa. Cada uno de estos datos representa la media de un número determinado de valoraciones, acompañado de su error típico correspondiente.

De las cuatro absorciones sucesivas, la primera y tercera son soluciones puras de glucosa, en tanto que a la segunda y

TABLA I

Efecto del ion potasio sobre la absorción de glucosa 150 mM por el intestino delgado de rata.

Animales n.º	Tiempo min.	[K+] mequiv/l.	Absorción normal $\mu\text{M}/\text{cm}$.	Absorciones sucesivas (Inhib. %)		
				2.ª con K	3.ª	4.ª con K
6	30	77	$21,6 \pm 0,8$	$20,0 \pm 1,9$	$2,3 \pm 0,2$	$23,0 \pm 1,0$
6	30	60	$19,7 \pm 1,2$	$15,8 \pm 1,4$	$0,3 \pm 0,5$	$18,0 \pm 1,7$
6	30	30	$20,4 \pm 0,8$	$10,0 \pm 0,8$	0,0	$13,0 \pm 1,0$
6	30	15	$20,9 \pm 1,0$	$5,0 \pm 0,8$	0,0	$7,0 \pm 0,9$
6	30	6	$20,5 \pm 2,8$	$1,5 \pm 0,3$	0,0	$1,3 \pm 0,3$

cuarta se les añadió el catión a investigar. Entre una y otra absorción lavamos el asa intestinal con una solución de cloruro sódico al 0,9 % (isotónica).

En primer lugar, se estudió la acción directa que ejerce el ion potasio, cuando se halla presente en la misma solución que la glucosa a absorber, a concentraciones de 6 a 77 miliequivalentes por litro (Tabla I). Se obtiene una inhibición estadísticamente significativa a una probabilidad $P < 0,01$, incluso para las concentraciones más bajas, y cuya intensidad varía, aunque no linealmente, con la concentración del catión (fig. 1).

Para una misma concentración del ion alcalino, la glucosa experimenta una inhibición semejante en las dos absorciones en que el potasio se halla presente. En cambio, en la tercera, la absorción es la misma que en la primera, excepto para la concentración de 77 mequiv./l., que mantiene una inhibición significativa, aunque muy reducida. Esto indica que por debajo de una determinada concentración de potasio, basta el simple lavado de la mucosa del asa intestinal con la solución salina fisiológica al 0,9 %, para que desaparezca por completo la acción inhibidora del mismo.

Las distintas concentraciones ensayadas del monosacárido influyen poco sobre la intensidad de la inhibición, como se ha podido comprobar al estudiar el efecto que una misma concentración de potasio ejerce sobre la absorción de soluciones hipotónicas de glucosa a 20, 40, 75 y 150 milimolar (Tabla II). El potasio se ha ensayado a 60 miliequivalentes por litro, porque a esta concentración los efectos inhibidores sobre la absorción son de una intensidad bastante apreciable. Aquí también se confirma que la acción inhibidora, originada por la presencia del catión, es reversible por el simple lavado del asa con solución isotónica de cloruro sódico.

A lo largo de todas nuestras experiencias — glucosa y potasio a varias concentraciones —, el ion alcalino no se ha mostrado en ningún momento como activador de la absorción *in vivo* de la glucosa.

TABLA II

Absorción intestinal de glucosa en presencia de $\text{ClK } 6 \times 10^{-2} \text{ M}$.

Animales n.º	Tiempo min.	[Glucosa] mM	Absorción normal $\mu\text{M/cm.}$	Absorciones sucesivas (Inhib. %)		
				2.ª con K	3.ª	4.ª con K
6	30	150	$19,7 \pm 1,2$	$15,8 \pm 1,4$	$0,3 \pm 0,5$	$18,5 \pm 1,5$
6	30	75	$13,5 \pm 0,6$	$15,2 \pm 1,2$	$1,0 \pm 0,5$	$18,0 \pm 1,7$
6	30	40	$9,0 \pm 0,4$	$15,8 \pm 1,5$	$1,0 \pm 0,6$	$18,3 \pm 1,0$
5	30	20	$5,0 \pm 0,3$	$16,0 \pm 1,7$	$0,5 \pm 0,7$	$19,4 \pm 1,5$

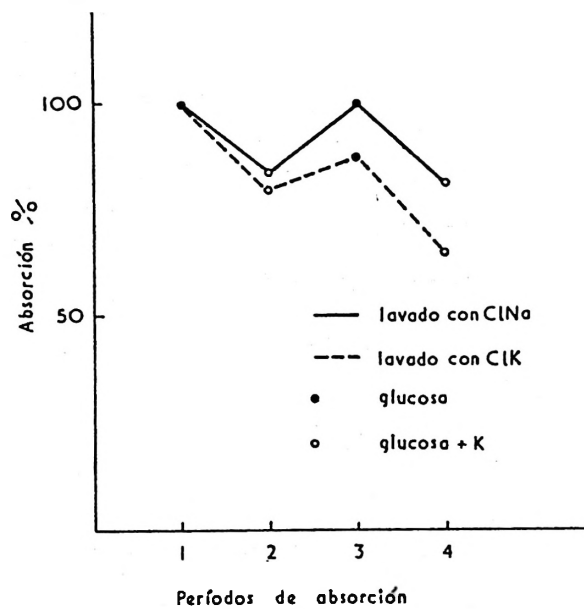


FIG. 1. Inhibición de la absorción intestinal de glucosa 150 mM por el ion potasio

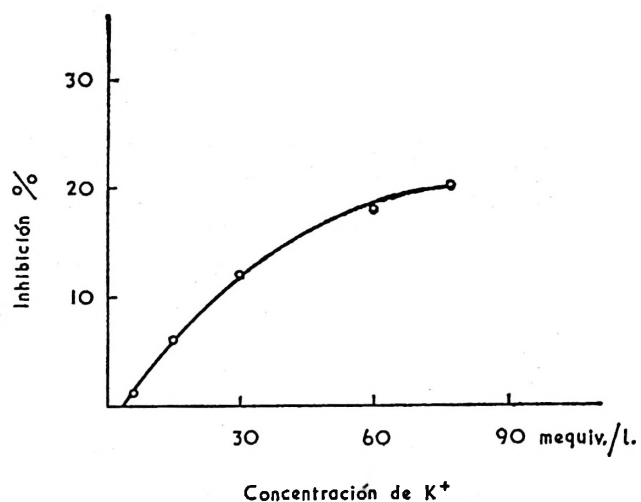


FIG. 2. Acción de 60 mequiv./l. de ion potasio sobre la absorción de glucosa. Lavado del asa con solución isotónica de CINa o de ClK.

Cuando el lavado entre dos absorciones sucesivas no se hace con la solución de cloruro sódico, sino que se lleva a cabo con otra equivalente de cloruro potásico, la recuperación en la tercera absorción desaparece, a la vez que se aprecia en la cuarta un notable incremento de la inhibición, tal vez por un efecto acumulativo del ion potasio, constantemente presente en el asa intestinal (Tabla III).

TABLA III

Absorción intestinal de glucosa en presencia de ion potasio cuando la mucosa del asa se lava, entre dos absorciones, con ClK isotónico.

Animales n.º	Tiempo min.	[K+] mequiv/l.	[Glucosa] mM	Absorción normal $\mu\text{M}/\text{cm.}$	Absorciones sucesivas (Inhib. %)		
					2.ª con K	3.ª	4.ª con K
10	30	60	150	$13,2 \pm 1,0$	$20,3 \pm 1,0$	$16,6 \pm 1,3$	$32,9 \pm 2,5$
6	30	6	150	$14,0 \pm 1,1$	$20,5 \pm 0,6$	$14,3 \pm 1,4$	$30,5 \pm 1,9$
6	30	60	75	$14,2 \pm 1,5$	$13,6 \pm 0,9$	$17,0 \pm 1,3$	$31,2 \pm 1,7$
6	30	6	75	$13,0 \pm 0,8$	$13,7 \pm 1,2$	$13,7 \pm 1,2$	$30,0 \pm 1,9$
6	30	60	40	$13,3 \pm 1,0$	$8,9 \pm 0,1$	$17,0 \pm 1,1$	$31,2 \pm 1,5$
5	30	60	20	$13,2 \pm 1,4$	$5,0 \pm 0,1$	$16,2 \pm 1,3$	$30,6 \pm 2,1$

La tercera absorción alcanza una inhibición del 13-14 %, en tanto que en la cuarta se observan inhibiciones del 31-33 %, que en algunos casos individuales llega a superar el 40 %, frente a la inhibición media de 18 % que se obtiene cuando el lavado se realiza con ClNa, a pesar de que la concentración del potasio en asa no se haya alterado, figura 2.

La sustitución del sodio por el potasio en los líquidos de lavado da lugar a un efecto tan marcado, que la intensidad de la inhibición es la misma cualquiera que sea la concentración del potasio que acompaña a la glucosa del asa. Cuando esta

TABLA IV

Acción del lavado de la mucosa del asa con solución isotónica de ClK sobre la absorción intestinal de la glucosa.

Animales n.º	Tiempo min.	[Glucosa] mM	Absorción normal $\mu\text{M}/\text{cm.}$	Absorciones sucesivas (Inhib. %)	
				2.ª tras lavado con ClK	3.ª tras lavado con ClK
8	30	150	$20,5 \pm 0,5$	$13,6 \pm 0,5$	$14,9 \pm 1,2$
8	30	75	$13,0 \pm 0,4$	$12,9 \pm 0,9$	$14,0 \pm 1,0$
8	30	40	$9,2 \pm 0,3$	$13,9 \pm 0,9$	$15,7 \pm 1,0$
5	30	20	$5,2 \pm 0,1$	$14,6 \pm 1,1$	$15,8 \pm 1,0$

concentración es pequeña (6 mequiv./l) se observa, además, una exaltación en la inhibición de la segunda absorción, cuya intensidad se corresponde con la obtenida para el efecto debido únicamente al lavado del asa con solución isotónica de cloruro potásico (Tabla IV). El simple lavado con potasio, sin adición del catión a la solución del azúcar, origina también una inhibición claramente significativa, con independencia de la concentración de la glucosa presente en el asa.

La inhibición producida por el potasio sobre la absorción intestinal de la glucosa, desaparece cuando el ion se mezcla, en la misma asa intestinal, con una cantidad equivalente de ion sodio (Tabla V).

TABLA V

Acción conjunta de los iones sodio y potasio sobre la absorción intestinal de la glucosa.

Animales n.º	Tiempo min.	[Glucosa] mM	miliequiv/l. Na ⁺ + K ⁺	Absorción normal μ M/cm.	Absorc. suces. (Incremento %)		
					2.ª (NaYK)	3.ª	4.ª (NaYK)
6	30	150	30 30	20,7 $\pm$ 0,5	3,5 $\pm$ 0,4	0,0	4,3 $\pm$ 0,7
6	30	75	60 60	15,1 $\pm$ 0,6	1,8 $\pm$ 0,4	0,0	2,2 $\pm$ 0,5
6	30	40	60 60	8,8 $\pm$ 0,6	1,7 $\pm$ 0,4	0,0	2,5 $\pm$ 0,5
6	30	40	30 30	8,7 $\pm$ 0,4	3,8 $\pm$ 0,5	0,0	4,7 $\pm$ 1,0

En este caso, la presencia del sodio no sólo neutraliza todos los efectos inhibidores presentados anteriormente por el potasio, sino que manifiesta una pequeña activación de la absorción intestinal de la glucosa, tanto más cuanto menor es la concentración de potasio presente. Estos resultados pueden explicarse teniendo en cuenta los expresados en la tabla VI, donde se pone de manifiesto que la adición de sodio a la misma asa que la glucosa provoca un incremento de la absorción del azúcar, estadísticamente significativo para una probabilidad $P < 0,01$.

TABLA VI

Absorción intestinal de la glucosa en presencia de ClNa 6×10^{-2} M.

Animales n.º	Tiempo min.	[Glucosa] mM	Absorción normal μ M/cm	Absorc. suces. (Incremento %)		
				2.ª con Na	3.ª	4.ª con Na
6	30	150	20,4 $\pm$ 0,8	16,3 $\pm$ 1,6	0,0	17,0 $\pm$ 2,5
6	30	40	8,5 $\pm$ 0,5	16,5 $\pm$ 1,6	0,0	17,2 $\pm$ 1,7

Los resultados experimentales alcanzados bajo la acción del sodio, descartan toda posibilidad de atribuir las inhibiciones producidas por el potasio a un efecto osmótico, como resultado del aumento de concentración de la solución de glucosa al disolver los iones ensayados, porque idéntico efecto se alcanzaría con la misma cantidad equivalente de uno u otro catión.

Con el fin de comprobar si el efecto inhibidor encontrado en las absorciones intestinales de glucosa, responde a una acción directa del potasio, o se debe más bien a una ausencia de ion sodio, se llevan a cabo experiencias siguiendo la técnica de la doble asa, según la cual el potasio se coloca en segmento distinto al que se absorbe la glucosa, cuya asa se lava con ClNa. Los resultados obtenidos (Tabla VII) indican para concentraciones elevadas — 77 a 154 mequiv./l — un efecto inhibidor proporcional al tiempo de acción, que da lugar a una caída constante y progresiva de la absorción. En cambio, a concentraciones bajas — 30 mequiv./l — se obtienen reducidas inhibiciones, que no tienen valor significativo. También el sodio neutraliza los efectos del potasio en asa distinta, pero en este caso no se aprecia exaltación de la absorción.

TABLA VII

Absorción intestinal de glucosa 150 mM, bajo la acción del ion potasio colocado en asa distinta.

Animales n.º	Tiempo min.	[K+] mequiv/l.	Absorción normal μM/cm.	Absorciones sucesivas (Inhib. %)		
				2.ª	3.ª	4.ª
6	30	154	20,3 ± 1,1	15,8 ± 2,1	34,0 ± 5,7	51,6 ± 6,0*
6	30	77	20,1 ± 0,7	7,6 ± 0,7	15,7 ± 1,0	25,2 ± 1,5
6	30	60	21,0 ± 0,5	2,1 ± 0,7	3,6 ± 0,9	5,8 ± 1,5
6	30	30	21,5 ± 0,7	1,5 ± 0,5	2,5 ± 0,8	2,7 ± 1,0
5	30	77**	21,0 ± 0,9	0,0	0,0	0,0

* Mueren el 50 %.

** Con adición de 77 miliequivalentes/litro Na+.

Discusión

La absorción intestinal *in vivo* de la glucosa por el intestino delgado de rata es un proceso notablemente influido por la presencia de distintos cationes (1).

Desde los trabajos de QUASTEL (11) y CZAKY (4) parece que la presencia del ion sodio es necesaria para que pueda tener lugar el transporte activo de la glucosa en preparaciones *in vi-*

tro. La absorción de glucosa va acompañada de una transferencia de sodio a través de un efecto bomba descrito por CRANE (3). Cuando las experiencias son llevadas a cabo con técnicas *in vivo*, en la que los procesos fisiológicos del animal siguen desarrollándose con normalidad, la acción de la presencia, o ausencia, de iones sodio o potasio es un hecho difícil de establecer, puesto que el mismo funcionamiento fisiológico del intestino puede aportar estos iones. No obstante, los resultados obtenidos en nuestras experiencias pueden ser considerados como demostrativos de las influencias ejercidas por uno u otro catión. No se puede establecer *in vivo* una total carencia de sodio o de potasio, pero sí es posible determinar los efectos de su adición, o déficit, a la misma asa en la que se absorbe la glucosa y comprobar qué ocurre con el transporte activo de este azúcar.

El comportamiento *in vivo* del potasio como inhibidor se manifiesta de una forma estadísticamente significativa, con una probabilidad $P < 0,01$, para cualquier concentración del catión o del azúcar ensayado, y en ningún caso, frente a lo apuntado por RIKLIS y QUASTEL *in vitro*, se ha mostrado como favorecedor del proceso activo. La intensidad del efecto es independiente de la concentración del azúcar, varía con la del ion presente en el asa y se favorece con la sustitución del ClNa del lavado habitual del intestino por una solución equivalente de ClK.

A primera vista, esta inhibición podría responder a una carencia de iones sodio, o tal vez ser consecuencia del efecto tóxico del potasio sobre las estructuras celulares. Los resultados de nuestras experiencias hacen pensar en una posible intervención de ambas causas en el efecto total de la inhibición, que se nos presenta como un proceso fisiológico bastante complejo.

Para concentraciones elevadas de potasio (77 a 154 mequiv./l) existe un efecto general, motivado por la acción tóxica que el catión ejerce sobre la fisiología celular, que se pone de relieve de una forma concluyente en aquellas experiencias donde la acción del potasio se ejerce en asa distinta a la que es absorbida la glucosa. En cambio, para concentraciones menores (15 a 60 mequiv./l) parece manifestarse un efecto local, no acusado en las experiencias en distinta asa, que posiblemente pueda depender de la ausencia de una concentración adecuada de iones sodio.

De todas estas consideraciones, cabe distinguir dos aspectos en la influencia ejercida por los iones potasio sobre la intensidad de la absorción *in vivo* de la glucosa por el intestino delgado de rata. Por un lado, hay que tener en cuenta la disminución en la velocidad de absorción como consecuencia de una acción tóxica general de los iones potasio. Por otro, debe existir una

acción más localizada, como consecuencia de una concentración, más o menos intensa, de iones potasio en la luz del intestino que impide la acumulación del azúcar — primer paso del transporte activo (2) — en el interior de las células epiteliales de la mucosa.

Según CZAKY (4), la presencia de sodio en los procesos de absorción intestinal se requiere únicamente en la superficie de la mucosa. También es conocido el antagonismo del sodio y potasio en los procesos de transporte de estos iones, a través de las membranas celulares. Una preponderancia de iones potasio puede dar lugar, bien por la distinta fuerza de campo aniónico o tal vez por una diferente capacidad de hidratación iónica, a una barrera que se oponga al paso del azúcar al interior del asa intestinal. La escasez de iones sodio, aportados solamente por la fisiología normal del tejido, no permite al azúcar superar dicha barrera, como debe ocurrir, sin embargo, cuando se adiciona una cantidad conveniente de tales iones.

Resumen

Se estudia el efecto de los iones potasio sobre la absorción de la glucosa por el intestino delgado de rata.

Se obtiene una inhibición que varía con la concentración del catión y que es significativa estadísticamente.

A concentraciones elevadas (>77 mequiv./l) existe un efecto general que se manifiesta en una intensa inhibición de la absorción, incluso en aquellos casos en que el ion potasio se encuentra en asa distinta a la que se absorbe la glucosa.

A concentraciones más bajas (15-60 mequiv./l) se obtiene un efecto inhibitor local, reversible por el lavado del asa con solución isotónica de ClNa y neutralizado por la adición equivalente de iones sodio.

En ningún caso el potasio ha provocado una activación de la absorción frente a lo manifestado por algunos autores.

La adición de iones sodio a las soluciones de glucosa da lugar a un incremento de la absorción de igual magnitud que la inhibición provocada sobre la misma por la cantidad equivalente de potasio.

Summary

Inhibition by potassium ion of the intestinal absorption of glucose

A study has been made of the effect of potassium ions on the absorption of glucose by the small intestine of the rat, with the *in vivo* technique of SOLS and PONZ. The concentrations tested were of 20, 40, 75 and 154 mM glucose, and 6, 15, 30, 60 and 77 m. eq./l. of potassium ion. On each animal four successive absorptions were carried out, of thirty mi-

minutes each: the first and third with a solution of pure glucose; the second and fourth with a solution of glucose plus potassium. The results are expressed as μM of sugar absorbed per cm of length of intestine, and the % of inhibition obtained in the following successive absorptions with respect to the first, considered as normal in all the experiments.

An inhibition has been obtained which varies, although not linearly, with the concentration of cation. The inhibitions found are statistically significant for any concentration of potassium (Table I), independently of the concentrations of glucose tested (Table II). For 15 m. eq./l. of K^+ , the inhibition is reduced ($5\% \pm 0.8$), but no increase in the intensity of absorption ever appears, as been found *in vitro* by RIKLIS and QUASTEL.

The inhibitions cannot be attributed to an osmotic effect resulting from the increase in concentration by the dissolution of the ions, as an equal concentration of sodium ions provokes a contrary effect. The addition of sodium to pure solutions of glucose increases the absorption in a similar proportion % to that of the inhibition produced on the same by its equivalent of potassium (Table VI).

The washing of the intestinal loop with an isotonic solution of ClK produces an inhibition of 14 % (Table IV), and intensifies the effects produced by the presence of the potassium in the same loop as the sugar (Table VII).

For concentrations equal to, or less than 60 m. eq./l. of K^+ , the inhibition is made reversible by simply washing the loop, before the following absorption, with an isotonic solution of ClNa . Higher concentrations (77-154 m. eq./l.) render the inhibiting effect persistent, perhaps on account of a strong toxic action which shows itself even in those experiments in which the potassium is found in a different loop from that which absorbs the glucose (Table VII). In these latter conditions there is no significant inhibition below 60 m. eq./l.

The inhibiting effect of the potassium is neutralized by the presence in the same loop of the equivalent quantity of sodium ions (Table V).

The results obtained suggest a double effect of the potassium ions on the intestinal absorption *in vivo* of glucose: a general one, only appreciable for high concentrations of cation, and caused by a toxic action on the cellular physiology, and a local one, which seems to depend on the concentration of sodium ions present.

Bibliografía

- (1) CLARKSON, T. W. and A. ROTHSTEIN : *Am. J. Physiol.*, **199**, 896. 1960.
- (2) CRANE, R. K. : *Physiol. Rev.*, **40**, 789. 1960.
- (3) CRANE, R. K., D. MILLER and I. BIHLER : *Membrane Transport and Metabolism*. Czechoslovak. Academy of Science Press. Praga. 1961.
- (4) CZAKY, T. Z. and M. THALE : *J. Physiol.*, **151**, 59. 1960.
- (5) GARDNER, J. W. and G. F. BUDGET : *Am. J. Physiol.*, **121**, 475. 1938.
- (6) GELLHORN, E. and A. SKUPA : *Am. J. Physiol.*, **106**, 318. 1933.
- (7) GIRÁLDEZ, A. y J. LARRALDE : *R. esp. Fisiol.*, **16**, 79. 1960.
- (8) LARRALDE, J. y A. GIRÁLDEZ : *R. esp. Fisiol.*, **13**, 253. 1957.
- (9) LARRALDE, J. y A. GIRÁLDEZ : *R. esp. Fisiol.*, **14**, 31. 1958.
- (10) NELSON, N. : *J. Biol. Chem.*, **153**, 375. 1944.
- (11) RIKLIS, E. and J. H. QUASTEL : *Can. J. Biochem. and Physiol.*, **36**, 347. 1958.
- (12) SOLS, A. y F. PONZ : *R. esp. Fisiol.*, **2**, 283. 1946.