

Contribución del intestino al metabolismo de la glucosa proveniente de la dieta

ANDRES CARMONA, BEATRIZ DE LA TORRE, MERIS CASOTTO Y OLGA de MARCUCCI

Laboratorio de Bioquímica Nutricional y Metabolismo, Centro de Biología Celular

Instituto de Biología Experimental e Instituto de Medicina Experimental, Universidad Central de Venezuela

Apartado 47114. Caracas 1041A, Venezuela. E-mail: ajcarmona@cantv.net.

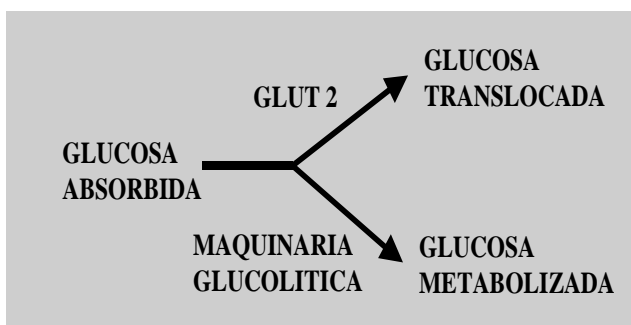
La visión tradicional del metabolismo de los carbohidratos en los animales superiores, que considera al hígado como el órgano central del "sistema glucostático", ha sido profundamente cuestionada. Un grueso cúmulo de evidencias demuestra que la glucosa no es un buen precursor para la síntesis del glucógeno hepático, mientras que algunos sustratos gluconeogénicos (piruvato, alanina, glutamina y glicerol) promueven la rápida deposición del polímero a través de la ruta de la gluconeogénesis. Se ha estimado que, al menos, 2/3 de la glucosa proveniente de la dieta debe transformarse en un intermediario de 3 carbonos, presumiblemente el lactato, antes de que se la pueda incorporar en el glucógeno. Un aspecto no aclarado de la "teoría de la ruta indirecta de síntesis del glucógeno" es el sitio, o sitios, dónde ocurre la transformación inicial de la glucosa en lactato. El intestino delgado aparece como un lugar de alto potencial, ya que posee todo el complemento enzimático de la glucólisis y muestra una elevada tasa de producción de lactato, bajo condiciones aeróbicas, durante la absorción de la glucosa y su translocación a la sangre. El hígado, el páncreas y el intestino comparten un mismo transportador de glucosa (GLUT 2) y expresan la glucoquinasa (hexoquinasa IV) una de la isoenzimas de fosforilación de la glucosa. Ello sugiere que estos tres órganos pudieran jugar un papel importante en la homeostasis de la glucosa y, en particular el intestino, participar en el metabolismo inicial del azúcar proveniente de la dieta.

Introducción

Los carbohidratos son los principales componentes de la dieta. Entre ellos, los almidones y el azúcar de mesa son los más importantes para los humanos. Así, un hombre de 70 Kg de peso debe digerir y asimilar 350-400 g de carbohidratos al día. Durante la digestión, los carbohidratos de la dieta son convertidos en glucosa, la cual se absorbe en la zona distal del ileon y en el yeyuno. Tradicionalmente se ha considerado que, después de la absorción, el monosacárido es translocado, intacto, a través de la mucosa intestinal, hasta la sangre, quedando disponible para ser usada, por el hígado y otros órganos, como fuente de energía y como precursor para la síntesis de glucógeno y ácidos grasos (1-2).

Múltiples reportes señalan que los enterocitos, además de la maquinaria para absorber y translocar al plasma el azúcar de la dieta, poseen el complemento completo de enzimas glucolíticas (3). En consecuencia, durante la asimilación de la glucosa ocurre la partición del azúcar que ingresa a los enterocitos (Figura 1) entre su transporte al plasma (con participación del transportador GLUT 2) o su conversión a lactato (maquinaria glucolítica) (2,4).

Figura 1. Partición de la glucosa absorbida en el enterocito



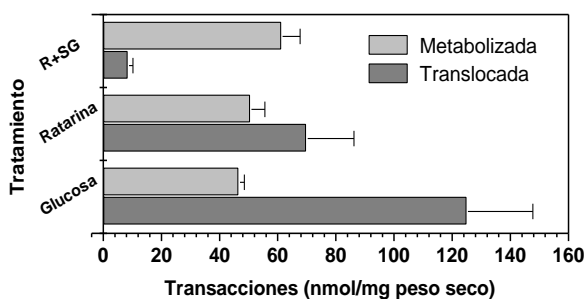
Aunque el escenario planteado en la Figura 1 es ampliamente aceptado, existe discrepancia en relación con la proporción del azúcar que es metabolizada a lactato, reportándose desde valores insignificantes hasta otros superiores al 75%. Parte de esta discrepancia se ha atribuido a deficiencias en la oxigenación del tejido (2), llegando, en ocasiones, a diseños experimentales que enfatizan un estado de hiperoxigenación (5) que puede carecer de sentido fisiológico.

En este trabajo se explora la influencia de diferentes factores que pudieran alterar la partición de la glucosa absorbida y el efecto de la dieta sobre la actividad de las enzimas fosforiladoras de la glucosa en el intestino y el hígado, por considerarse que la fosforilación del azúcar en el intestino dirige el flujo de carbonos en dirección al lactato en detrimento de su translocación al plasma.

1. Partición de la glucosa absorbida en segmentos intestinales perfundidos *in vitro*.

Nuestra hipótesis de trabajo ha implicado manipular las condiciones nutricionales y de incubación de segmentos intestinales para alterar el balance en la partición de la glucosa absorbida entre la translocación al lado seroso o su metabolismo a lactato. En la Figura 2 se muestra el efecto del tratamiento nutricional, al que se sometieron los animales donantes de segmentos intestinales, sobre la cantidad de glucosa transportada intacta al lado seroso y la transformada en lactato en segmentos invertidos perfundidos *in vitro* (6). En los alimentados con una dieta a base de glucosa (60%) más del 70% de la glucosa absorbida fue translocada intacta; por su parte, la alimentación con ratarina (dieta comercial a base de almidón) disminuyó la translocación y favoreció la formación de lactato, particularmente cuando el agua de beber se sustituyó con una solución de glucosa al 5% (R +SG).

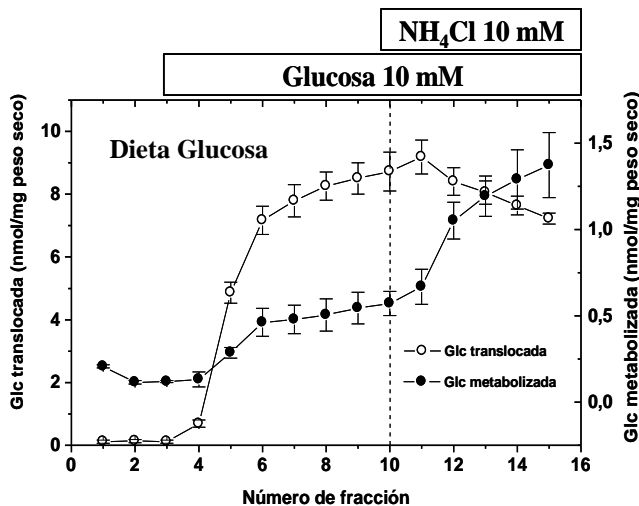
Figura 2. Partición de glucosa en segmento intestinales perfundidos por 36 minutos.



El último tratamiento, en el cual la ingesta de glucosa ocurre tanto cuando el animal come, como cuando toma agua, tuvo un efecto dramático sobre la partición de la glucosa, elevando la producción de lactato hasta el 87% del azúcar absorbido. Parte de los cambios descritos pueden deberse a los efectos tróficos que se observaron a nivel del intestino delgado, con un espesor mayor en los animales que recibieron ratarina y SG.

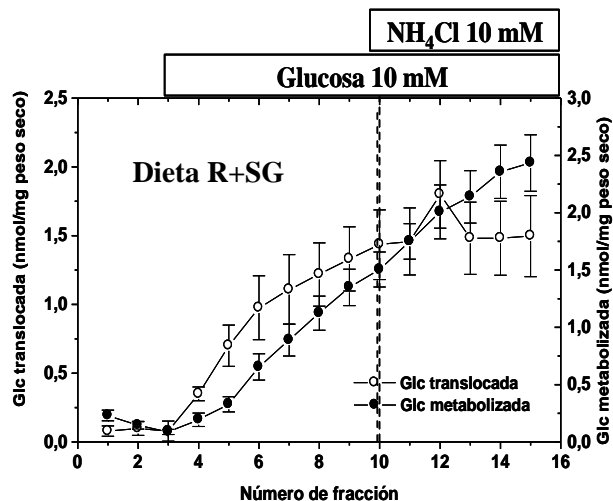
Otro enfoque ensayado para alterar la partición de glucosa en segmentos intestinales fue la adición de amoníaco, un potente activador de la fosfofructoquinasa-1 intestinal (7).

Figura 3. Efecto del ión amonio sobre la partición de glucosa en segmentos intestinales perfundidos in vitro.



En este experimento de perfusión de segmentos provenientes de ratas alimentadas con la dieta de glucosa, al añadir la glucosa al medio luminal se observó la aparición de glucosa y lactato en el medio seroso. La proporción de glucosa metabolizada a lactato durante la primera fase (fracciones 4-10) fue cercana al 10%. Luego de la adición de cloruro de amonio (fracciones 11-15) se observó una disminución moderada de la cantidad de glucosa translocada intacta, mientras que la cantidad de lactato en el medio seroso se duplicó. Estos resultados sugieren que la enzima fosfofructoquinasa-1 puede jugar un papel importante en la regulación del flujo glucolítico y, en consecuencia, alterar el balance en la partición del azúcar entre la translocación y el metabolismo (8).

Figura 4. Efecto del ión amonio sobre la partición de glucosa en segmentos intestinales perfundidos in vitro.



El experimento de perfusión en presencia de amoníaco fue repetido utilizando segmentos intestinales provenientes de ratas que recibieron ratarina y SG. Como se señaló en la Figura 2, el mencionado tratamiento favorece el metabolismo de la glucosa absorbida. Como se observa en la Figura 4, la adición de amoníaco no tuvo el efecto observado con los segmentos provenientes de ratas alimentadas con glucosa. Aparentemente, los cambios tróficos que ocurren cuando se suministra ratarina+SG, alteran el balance de efectores de la fosfofructoquinasa-1, encontrándose ésta en un estado de alta actividad, por lo que el amoníaco no produce un efecto de activación adicional.

Considerando que la partición de la glucosa estará determinada por el balance entre las actividades del transportador GLUT 2 y de las enzimas fosforiladoras del azúcar, se estudió el efecto de diferentes tratamientos sobre la actividad de las isoenzimas de la familia de las hexoquinazas.

2. Efecto de la dieta sobre las actividades de fosforilación de glucosa hepáticas e intestinales.

En las células de mamíferos la fosforilación de la glucosa es catalizada por una familia de isoenzimas, denominadas hexoquinazas (HQ; ATP:D-hexosa-6-transferasa; EC 2.7.1.1). La fosforilación del azúcar es una reacción termodinámicamente desfavorable, en la que el grupo fosfato procedente del ATP es transferido al grupo hidroxilo libre del carbono 6. Las hexoquinazas difieren en muchas de sus propiedades catalíticas y exhiben además una variada distribución tanto a nivel intracelular como tisular (9). En mamíferos, se han caracterizado cuatro isoenzimas: las hexoquinazas I, II, III y IV de acuerdo a su movilidad electroforética en geles de poliacrilamida (10); la hexoquinasa IV es comúnmente conocida como glucoquinasa (GQ).

A diferencia de las otras HQ, GQ presenta una baja afinidad por la glucosa, una curva de saturación sigmoideal para este sustrato, con un coeficiente de Hill de aproximadamente 1.5 y es inhibida por una proteína reguladora, así como también por acyl-CoAs de cadena larga (11,12,13).

Estudios realizados en mucosa del yeyuno de rata (14) evidenciaron la existencia de las cuatro isoenzimas en este tejido;

señalándose que la HQ IV ó GQ tenía un comportamiento electroforético similar a la enzima hepática. No obstante, los grupos que, utilizando metodologías más modernas, han estudiado la distribución tisular de GQ, la reportan sólo en el hígado y páncreas (11,15). Hasta la fecha no se ha determinado si la actividad de GQ de la mucosa intestinal tiene un comportamiento cinético similar a la del hígado; de ser así, los enterocitos tendrían en común con los hepatocitos y las células β del páncreas, la expresión de los genes que codifican para GQ (16) y el transportador GLUT 2 (17), dos componentes de la maquinaria enzimática del metabolismo de los carbohidratos a los cuales se les asigna una relevancia especial en el control de la glicemia.

Tabla 1. Efecto de la dieta sobre las actividades de fosforilación de la glucosa en intestino e hígado de rata

Tejido	Dieta	CFT	HQ	GQ
Intestino	Ratarina	5.82 1.04	5.70 0.51	0.12 0.08
	Glucosa	4.62 0.45	3.83 0.38	0.79 0.20
	Sacarosa	2.86 0.20	2.21 0.11	0.65 0.08
	Almidón	3.15 0.15	2.76 0.14	0.39 0.04
	Caseína	1.55 0.22	1.20 0.17	0.35 0.02
Hígado	Ratarina	1.97 0.47	0.40 0.05	1.57 0.21
	Glucosa	4.52 0.70	1.45 0.17	3.07 0.49
	Sacarosa	1.96 0.18	0.12 0.03	1.84 0.18
	Almidón	2.1 0.21	0.42 0.07	1.68 0.22
	Caseína	1.44 0.04	0.19 0.02	1.25 0.22

Las actividades se expresaron como nmol de glc/mg prot./min. Los valores en cada celda corresponden a la media \pm error estándar (n=4).

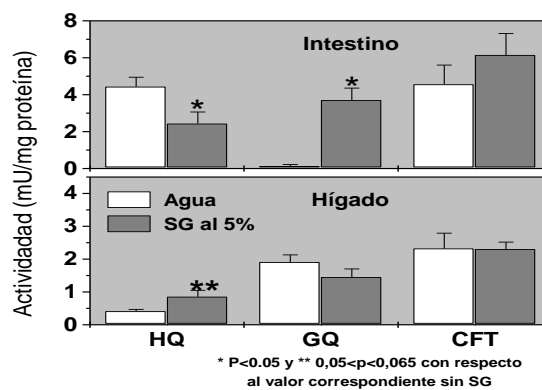
En general (tabla 1), para todas las dietas la CFT del intestino fue mayor que la del hígado, con excepción de la dieta de glucosa. La GQ es la enzima que hace la mayor contribución a la CFT hepática, fluctuando entre el 66% (Glucosa) y el 93% (Sacarosa). En contraste, en el intestino, la HQ hace la mayor contribución a la CFT, mientras que GQ tuvo una contribución menor que fluctuó entre el 2% (Ratarina) y el 23% (S). Los más bajos niveles de CFT, HQ y GQ, tanto en el intestino como en el hígado, se encontraron en los animales alimentados con la dieta a base de caseína (75%). Ello sugiere que altos niveles de carbohidratos en la dieta inducen a las enzimas de fosforilación de la glucosa. El hecho de que el mencionado efecto de la caseína se haya manifestado en el intestino es una evidencia indirecta de que este órgano puede jugar un papel importante en el metabolismo inicial de la glucosa proveniente de la dieta. Igualmente sugestiva resulta la respuesta tisular en los animales alimentados con sacarosa. Este tratamiento produjo los mayores valores relativos para la actividad de GQ: 94% en el hígado y 23% en el intestino. A manera de especulación, podría pensarse que, la fructosa derivada del disacárido promueve, a través de su interacción con la proteína reguladora de la GQ, el incremento de esta isoenzima en el citoplasma de los hepatocitos y los enterocitos. Se ha reportado que la proteína reguladora

secuestra a la GQ en el núcleo, liberándola cuando aumenta la concentración intracelular de Fructosa -IP (18). Así, si la GQ intestinal muestra propiedades similares a la del hígado, ello pudiese explicar porqué se observan valores elevados de lactato en la vena porta de animales realimentados con sacarosa (19) y porqué dicha dieta tiene un muy elevado potencial lipogénico en el hígado (20).

3. Efecto diferencial de la adición de glucosa al agua de beber sobre las enzimas fosforiladoras de glucosa.

Como se señaló (Figura 2), la capacidad de translocación de glucosa al medio seroso se modifica por efecto de la dieta. Particularmente, ésta disminuye drásticamente cuando se suministra ratarina conjuntamente con la solución de glucosa al 5% (SG). Se quiso, así, evaluar el efecto del mencionado tratamiento sobre las actividades fosforiladoras de glucosa.

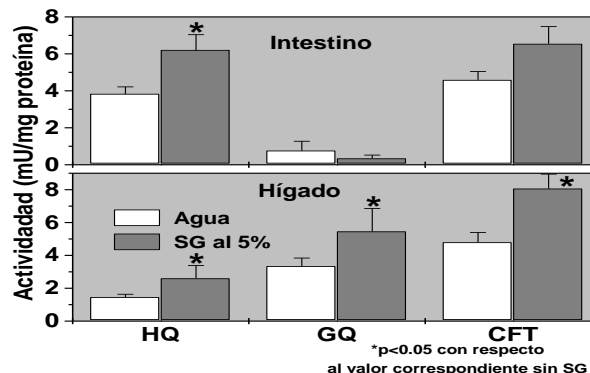
Figura 5. Efecto del suministro de SG al 5% sobre las actividades fosforiladoras de glucosa



En los animales alimentados con ratarina, la administración de SG produjo un marcado incremento en la actividad de GQ en el intestino, llegando a representar un 63% de la CFT. Asimismo, se observó una disminución significativa de la HQ y un incremento de la CFT. En contraste, en el hígado la CFT no se modificó, se observó un incremento de la HQ y una ligera disminución de GQ (Figura 5).

Si los animales se alimentan con la dieta a base de glucosa, y además reciben SG, en el intestino se produce un aumento diferencial de HQ y una disminución de GQ (Figura 6). En el hígado se observó un aumento diferencial de todas las actividades de fosforilación, aunque en términos relativos el mayor efecto se vio para la HQ.

Figura 6. Efecto del suministro de SG al 5% sobre las actividades fosforiladoras de glucosa



Los resultados de las Figuras 5 y 6 sugieren que, a nivel hepático, se manifiesta un efecto sinérgico cuando la glucosa

se suministra en forma sólida como líquida. En contraste, para el intestino la forma de administración del azúcar tiene efectos diferentes. La explicación de este fenómeno quizás resida en el hecho de que cuando la glucosa proviene de la dieta sólida, está se encuentra presente en el lapso de las comidas (12 horas del período de oscuridad), mientras que la que se suministra en forma líquida está presente de manera continua, como si se tratara de una “inundación” con el metabolito, pues el animal bebe SG, no porque tenga hambre, sino cuando tiene sed. De hecho, el consumo de líquido cuando se suministró SG fue mucho mayor que cuando se suministró sólo agua.

Desde una perspectiva global, pareciera que cuando aumenta la producción intestinal de lactato (animales que reciben R, R+SG y S) también se observa un aumento en la actividad de GQ intestinal. Ello fortalece la hipótesis de trabajo sobre el papel del intestino en el metabolismo inicial de la glucosa, proceso en el cual la GQ estaría involucrada.

Teniendo en cuenta la alta capacidad que posee la mucosa intestinal de realizar glucólisis, de la modificación en la partición de la glucosa absorbida en respuesta a diversos tratamientos, y la inducción diferencial de GQ, el intestino delgado se perfila como el principal surtidor de lactato para el anabolismo hepático.

Agradecimientos: Se agradece el financiamiento parcial a través de los proyectos CONICIT S1-2753 y CDCH UCV, 09-12-4451-99

Referencias

- Katz, J. y McGarry, D.** (1984) The glucose paradox. Is glucose a substrate for liver metabolism? *J. Clin. Invest.* 74:1901-1909.
- Carmona, A.** (1995) Metabolic cooperation between intestine and liver. Implications in relation to fat and glycogen synthesis. *Arch. Lat. Nutr.* 45 (Suppl. 1) 284S-288S.
- Srivastava, L.M. y Hubscher, G.** (1966) Glucose metabolism in the mucosa of the small intestine. Glycolysis in subcellular preparations from the cat and rat. *Biochem. J.* 100: 458-466.
- Silverman, M.** (1991) Structure and function of hexose transporters. *Ann. Rev. Biochem.* 60: 757-794.
- Windmueller, H.G. y Spaeth, A.E.** (1975) Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood. *Arch. Biochem. Biophys.* 171: 662-673.
- Carmona, A.** (1998) A simple in vitro perfusion system to measure intestinal nutrient uptake. *J. Nutr. Biochem.* 9: 52-57.
- Tseung, C-W. y Carmona, A.** (1990) Comparative study of phosphofructokinase from rat small intestine and liver. Control by fructose-2,6-bisphosphate and other effectors. *Acta. Cient. Venez.* 41: 311-316.
- Carmona, A.** (1999) Drogas, inhibidores y otras historias. De la quimioterapia a la toxicología nutricional. *Acta Cient. Venez.* 50: 210-219.
- Middleton R. J.** (1989) Hexokinases and glucokinases. *Biochemical Society Transactions.* Vol:18 180-183
- Van Schaftingen E.** (1989) A protein from rat liver confers to glucokinase the property of being antagonistically regulated by fructose 6-phosphate and fructose 1-phosphate. *Eur. J. Biochem.* 179: 179-184
- Printz R. L., Magnuson M. A., y Granner D. K.** (1993) Mammalian Glucokinase. *Annu. Rev. Nutr.* 13: 463-496
- Van Schaftingen E., Detheux M., y Veiga D. M.** (1994) Short-term control of glucokinase activity: role of a regulatory protein. *Faseb J.* 8: 414-419
- Zhong Xu L., Weber I., Harrison R.W., Gigh-Jain M., y Pilkis S.** (1995) Sugar specificity of human β -cell glucokinase: Correlation of molecular models with kinetic measurements. *Biochemistry* 34: 6083-6092
- Anderson, J.W y Tyrrel, J.B.** (1973) Hexokinase activity of rat intestinal mucosa: Demonstration of four isozymes and changes in subcellular distribution with fasting and refeeding. *Gastroenterology* 65: 69-76
- Miwa I, Mitsuyama S., Toyoda Y., Murata T. y Okuda J.** (1990) High-Yield purification of glucokinase from rat liver. *Preparative Biochemistry* 20(2): 163-178
- Boyd, M.E., Albright, E.B., Foster, D.W. y Mc Garry, J.D.** (1981) *In vitro* reversal of fasting state of liver metabolism in the rat. *J. Clin. Invest.* 68:142-152
- Silverman, M.** (1991) Structure and function of hexose transporters. *Ann. Rev. Biochem.* 60: 757-94
- Mohammed, M., Stubbs M., Agius L.** (1999) Evidence for glucose and sorbitol-induced nuclear export of glucokinase regulatory protein in hepatocytes. *Febs Letters* 462:453-458
- Carmona, A. Nishina, P. Avery, E. y Freedland** (1991) Time course changes in glycogen accretion, 6-phosphogluconate, fructose-2, 6-bisphosphate and lipogenesis upon refeeding a high sucrose diet to starved rats. *Int. J. Biochem.* 23: 455-460