



GLUCOGENOLISIS HEPATICA POR ADRENALINA Y SIMPATINA EN SAPOS NORMALES E HIPOFISOPRIVOS

B. A. HOUSSAY y R. GERSCHMAN

(Instituto de Biología y Medicina Experimental, Costa Rica 4185, B. Aires)

Se estudiaron factores endocrinos, nerviosos y farmacológicos que regulan la glucogenólisis del hígado de sapo perfundido.

TÉCNICAS. — Se emplearon sapos *Bufo arenarum* Hensel, casi todos machos de pesos entre 100 y 150 g. Destruída la médula se practicó la perfusión por la vena abdominal recogiendo el líquido de salida del seno venoso. El hígado estaba aislado de la circulación por ligadura del pedículo vascular del hígado y la vena cava. El Ringer empleado contenía en g/100 cm³: ClNa 0.65; Cl K 0.01; Cl₂ Cl_a 0.02; CO₃ H Na 0.02; PO₄ H₂ Na 0.005. Se colocaba en frascos de Mariotte a 25 cm de altura, colocándose pinzas de tornillo sobre el tubo de salida para graduar la entrada del líquido al hígado, de modo que pasaran por él 20 - 25 cm³ por hora. La cantidad de líquido perfundido es importante para la constancia de los resultados. Las perfusiones se hicieron en general de una hora, pocas veces de 20 en 20 minutos. En el líquido recogido, previa desalbuminación según Somogy, se valoró la glucosa según Hagedorn - Jensen. Los valores de glucosa se expresan en miligramos por 100 g de hígado, por minuto. Los experimentos se realizaron en los meses de diciembre a abril. La hipofisectomía se limitó a la ablación de la *pars distalis* que desempeña las funciones metabólicas.

RESULTADOS

Sustancias empleadas. — La perfusión prolongada durante dos o más horas con Ringer sólo produjo pequeñas oscilaciones. La adición de adrenalina o noradrenalina o simpatina produjo un claro aumento de la glucogenólisis y aumento de la glucosa liberada (Tabla 1). Estas sustancias se disolvieron en Ringer en el momento de usarse. La simpatina nos fué proporcionada por el profesor von Euler. La simpatina se preparó extrayendo 250 g de nervios, arterias y venas esplénicas de buey, frescos y molidos, y ese líquido concentrado en el vacío se extrajo con éter. La simpatina se tituló como noradrenalina por el color dado con cloruro férrico.

TABLA 1

Glucosa producida mg/100 g hígado/minuto
R = Líquido de Ringer
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión

	<i>Testigos</i>		<i>Adrenalina</i> <i>1:500.000</i>		<i>Noradrenalina</i> <i>1:500.000</i>		<i>Simpatina</i> <i>1:500.000</i>	
	<i>R.</i>	<i>R.</i>	<i>R.</i>	<i>Adr.</i>	<i>R.</i>	<i>Nor- adr.</i>	<i>R.</i>	<i>Simp.</i>
	2.44	2.31	2.40	7.43	1.94	5.40	1.74	8.31
% aumento	0		209		278		478	

Los resultados muestran variaciones individuales y según la temperatura ambiente, por lo que las comparaciones deben hacerse con igual lote de sapos y a temperaturas semejantes, en lo posible en un mismo día.

Se calcularon: la media, la desviación cuadrática media

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$$

, la significación de la diferencia entre las medias

$$\frac{m_1 - m_2}{\sqrt{(\epsilon_1)^2 + (\epsilon_2)^2}}$$

siendo el error "standard" de las medias $\epsilon = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n(n-1)}}$

Concentración de adrenalina. — La adrenalina aumentó la liberación de glucosa de los hígados de los sapos normales e hipofisoprivos entre 1:50.000 y 1:5.000.000 y resultó inactiva al 1:30.000.000 ó 1:100.000.000, pues los aumentos no son estadísticamente significativos (tabla 2). Esto indica que este sapo es mucho menos sensible que las ranas europeas.

TABLA 2

Glucosa producida, mg/100 g hígado/minuto
R = Solución de Ringer
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión

<i>Adrenalina I en</i>	HIGADO DE NORMALES			HIGADO DE HIPOFISOPRIVOS			<i>Operad. desde días</i>
	<i>Nº de casos</i>	<i>R.</i>	<i>Adren.</i>	<i>Nº de casos</i>	<i>R.</i>	<i>Adren.</i>	
500.000	9	2.40	7.43	10	0.94	3.60	9-23
	30	4.24	9.69	4	1.29	3.24	9-11
	—	—	—	5	0.75	4.57	23
	—	—	—	5	1.50	3.20	28-30
	—	—	—	9	1.03	2.60	34
1.000.000	5	0.77	5.44	3	0.60	6.43	23
5.000.000	9	4.22	6.99	3	2.72	4.90	20
30.000.000	6	1.83	3.89	6	0.66	0.86	30
100.000.000	6	3.58	4.48	4	2.57	2.76	22
<i>Testigo sin adre- nalina</i>	5	<i>R.</i>	<i>R.</i>	—	—	—	—
		2.44	2.31				

La liberación de glucosa durante la perfusión con Ringer siempre fué menor en el hígado de los sapos hipofisoprivos y con la adrenalina subió a cifras finales menores que en los normales.

El aumento porcentual provocado por la adrenalina fué mayor, tanto en los normales como en los hipofisoprivos, cuando los valores iniciales de glucogenólisis eran menores.

Los aumentos más grandes que hemos observado han sido 13 a 14 mg/100 g/minuto sobre la cifra inicial.

Duración del efecto. — Perfundiendo con adrenalina durante 3 horas se mantiene el aumento de la liberación de glucosa, con algunas oscilaciones. El valor más alto se observa o bien en la primera o en la segunda hora, en la mayor parte de los casos.

El aumento provocado por la adrenalina o la noradrenalina persiste durante el lavado de hora y media con Ringer, pero desaparece a las 7 horas de lavado (tabla 3).

TABLA 3

Glucosa producida mg/100 g/minuto
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión

<i>Ringer</i>	<i>Adrenalina</i> <i>1:500.000</i>	<i>Lavado</i> <i>Ringer</i> <i>horas</i>	<i>Ringer</i>	<i>Adrenalina</i> <i>1:500.000</i>
2.49	6.65	(7)	2.61	3.95
0.75	4.57	(½)	5.38	5.62
	<i>Noradrena-</i> <i>lina</i> <i>1:500.000</i>			
1.94	5.40	(½)	4.10	6.82

Repetición de la perfusión con adrenalina. — Una segunda perfusión con solución de adrenalina no produce un nuevo aumento si la liberación de glucosa era todavía grande. Pero produce un aumento, aunque menor que la primera vez, si por un lavado prolongado había descendido la glucogenólisis (tabla 3).

Sustancias adrenolíticas. — La ergotamina y el Fourneau 933 aumentaron la glucogenólisis del hígado de sapo (tablas 4 y 5).

TABLA 4

*Glucosa producida, mg/100 g hígado/minuto
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión*

Nº de experimentos	Ringer	Ergotamina 1:100.000	Ergotamina + Adrenalina 1:500.000	Ergotamina + Noradrenalina 1:500.000
3	3.62	5.37	3.77	—
3	3.27	3.80	—	5.87
<i>Ergotamina 1:1.000.000</i>				
3	1.63	4.49	5.56	—
3	2.01	2.17	—	5.77
<i>sin ergotamina</i>				
9	2.40	—	7.43	—
5	1.94	—	—	5.40

TABLA 5

*Glucosa producida, mg/100 g hígado/minuto
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión*

Nº de experimentos	Ringer	Fourneau 933 1:10.000	Fourneau 933 1:10.000 Adrenalina 1:500.000
5	4.25	4.81	6.15 6.44
		Adrenalina 1:500.000	Fourneau 933 1:10.000 Adrenalina 1:500.000
6	3.92	7.62	— 5.62

Durante la acción de esas sustancias la adrenalina no produjo aumento de glucogenólisis o fué mínimo; en cambio la noradrenalina produjo aumento de la glucogenólisis.

TABLA 6

*Glucosa producida, mg/100 g hígado/minuto. La dihidroergotamina (Sandoz) se empleó al 1:100.000
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión*

<i>Nº de experiment.</i>	<i>Ringer</i>	<i>Dihidroergotamina</i>	<i>Dihidroergotamina + adrenalina 1:500.000</i>	<i>Dihidroergotamina Noradrenal. 1:500.000</i>	<i>Dihidroergotamina Simpatina 1:500.000</i>
8	2.01	2.93	—	—	—
4	1.34	1.80	2.09	—	—
4	2.67	4.07	—	5.93	—
6	1.05	1.55	—	—	2.83

La diferencia entre las medias, de antes y después, calculada según la fórmula ya citada, no es significativa en el caso de la adrenalina (0.65), pero lo es en el caso de la noradrenalina (2.98) y de la simpatina (3.7).

TABLA 7

*Glucosa producida, mg/100 g hígado/minuto
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión*

<i>Número de experimentos</i>	<i>Ringer</i>	<i>Adrenalina 1:500.000</i>	<i>Adrenalina 1:500.000 + aloxano 1:1.000</i>
6 normales	5.72	11.04	2.93
9 hipofisoprivos de 34 días . .	1.03	2.70	2.67

Después del Fourneau 933 no se obtuvo la acción glucogenítica de la adrenalina. Durante la acción de la adrenalina la adición de Fourneau disminuyó ligeramente la glucogenólisis.

La dihidroergotamina (tartrato de dehidroergotamina Sandoz) al 1:100.000 inhibió netamente la acción glucogenolítica de la adrenalina, pero no suprimió la acción de la noradrenalina y de la simpatina. (Tabla 6).

Acción del aloxano. — El aloxano disminuye la acción glucogenolítica producida por la adrenalina en el hígado de los sapos normales. En los hipofisoprivos la adrenalina produjo poco aumento de glucosa liberada y el aloxano lo disminuyó luego poco, sin llevarlo por debajo del valor inicial. (Tabla 7).

Inyección subcutánea de adrenalina. — Se inyectaron lotes de sapos normales e hipofisoprivos desde 30 días, con adrenalina

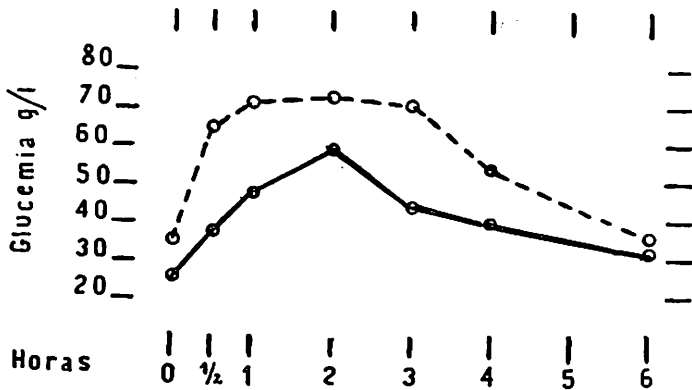


GRÁFICO 1

Curvas glucémicas de sapos *Bufo arenarum* Hensel, inyectados subcutáneamente con ~~adrenalina~~ *glucosa* adrenalina, 0,2 mg/100 g hipofisoprivos desde 20 días (fin de enero).
 ————— normales.

(0.2 mg/100 g) por vía subcutánea. Se determinó la glucemia antes y al cabo de 1/2 hora, 1, 2, 3, 4 y 6 horas de la infección. Cada valor es el promedio de 3 sapos.

La glucemia inicial fué más baja en los hipofisoprivos como es habitual. La adrenalina produjo aumento de la glucosa en ambos lotes, más rápido y sostenido en los normales. (Gráfico 1).

Inyección subcutánea de glucosa. — La inyección subcutánea dorsal de glucosa (0.3 g/100 g solución 15 %) produjo un ascenso glucémico semejante en hipofisoprivos y testigos. (Gráfico 2).

DISCUSIÓN

En las ranas europeas se ha comprobado que la extirpación de la *pars distalis* de la hipófisis inhibe la glucogenólisis. En efecto, después de esa ablación: a) la inyección subcutánea de adrenalina provoca glucosuria menor que en las testigos (1, 2, 12.); b) la perfusión del hígado con adrenalina libera menos glucosa que en el hígado normal (1, 2, 4 a 11).

Según Kepinow, el sistema glucogenolítico normal del hígado comprende tres factores: glucógeno, adrenalina y hormona hipofisaria. Esta última hormona de la hipófisis sería necesaria para que el glucógeno sea desdoblado por acción de la adrenalina. Esta

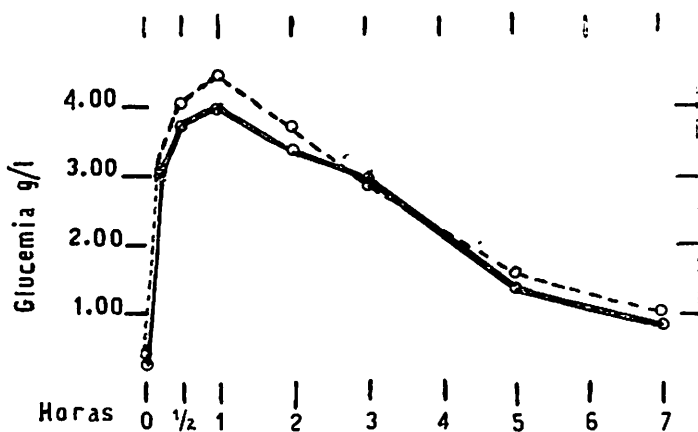


GRÁFICO 2

Curvas glucémicas de sapos *Bufo arenarum* Hensel, inyectados subcutáneamente con adrenalina, 0,3 mg/100 g
 ————— hipofisoprivos desde 20 días (fin de enero).
 - - - - - normales.

se podría impedir por: a) hipofisectomía; b) lavado prolongado del hígado, que extrae la sustancia hipofisaria; c) acción de la insulina. La administración de hipófisis o de extracto de hígado o músculo normal (que contendrían la sustancia hipofisaria) restituirían la glucogenólisis adrenalínica en los hígados de hipofisoprivos o prolongadamente lavados. La insulina es antagonista de la hormona hipofisaria y obra como la hipofisectomía o el lavado prolongado del hígado suprimiendo la acción glucogenolítica de la adrenalina.

En el sapo *Bufo arenarum* Hensel, la perfusión del hígado con adrenalina entre 1:500.000 y 1:5.000.000 produjo glucogenó-

lisis en el hígado de normales hipofisoprivos. La inyección subcutánea de adrenalina produjo un aumento de la glucemia un poco más rápido y sostenido en el sapo normal que en el hipofisoprivo. Esto puede depender de la menor concentración de glucógeno del hígado en el sapo hipofisoprivo (3).

A pesar de la variación estacional del hígado (13) se observó glucogenólisis por acción de la adrenalina entre los meses de diciembre a abril. La sensibilidad del sapo es mucho menor que la observada en ranas europeas (1 y 2).

CONCLUSIONES

1º) La adrenalina, noradrenalina y simpatina aumentan la glucogenólisis en el hígado de sapo perfundido.

2º) Esto se produce en el hígado de sapo normal e hipofisoprivo en concentraciones entre 1:500.000 y 1:5.000.000 pero no con mayores diluciones. La glucogenólisis inicial es más baja en los hipofisoprivos, los que muestran un aumento absoluto pequeño y un aumento porcentual marcado.

3º) La ergotamina y dihidroergotamina suprimieron la acción glucogenolítica de la adrenalina, pero no la de la noradrenalina o simpatina.

4º) La inyección subcutánea de adrenalina produce un aumento glucémico algo más rápido y sostenido en los sapos normales que en los hipofisoprivos.

5º) La inyección subcutánea de glucosa, a la dosis empleada, produjo igual aumento glucémico en los sapos normales e hipofisoprivos.

BIBLIOGRAFIA

1. Fluch M., Greiner H. und Loewi O.: *Klin. Woch.*, 1934, nº 24, 883. —
2. Fluch M., Greiner H. und Loewi O.: *Arch. Exper. Path. Pharm.*, 1935, 177, 167-176. —
3. Houssay B. A., Di Benedetto E. y Mazzocco P.: *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1933, 9, 4; *C. R. Soc. Biol.*, 1933, 113, 465. —
4. Kepinov L.: *C. R. Acad. Sciences*, 1937, 204, 808. —
5. Kepinov L.: *C. R. Soc. Biol.*, Paris, 1937, 126, 1084. —
6. Kepinov L.: *C. R. Acad. Sciences*, 5 Juillet, 1937, 205, 88. —
7. Kepinov L.: *Arch. Internat. Physiol.*, 1938, 46, 265. —
8. Kepinov L.: *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1938, 128, 331. —
9. Kepinov L.: *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1939, 130, nº 12, 1228. —
10. Kepinov L.: *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1939, 131, 457. —
11. Kepinov L. et Moricourt H.: *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1941, 135, 1560. —
12. Loewi O.: *Fiziol. Z.*, 1938, 24, 241-244. —
13. Mazzocco P.: *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1938, 14, 123; *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1938, 129, 857.