

"Efectos Hormonales "In Vivo" en la toma de Glucosa y Formación de Glucógeno Determinadas en el Corazón Aislado de Sapo"

M. A. Luján, A. Torres, R. Pérez y D. Morón
Departamento Central de Ciencias Fisiológicas.
Universidad de Cartagena - Facultad de Medicina.

INTRODUCCION

El propósito de este trabajo es medir la toma de glucosa y la formación de glucógeno por el corazón aislado de sapo "Bufo-Marinus" y observar el efecto de las siguientes hormonas: Prolactina, hormona de crecimiento (GH), adrenocorticotrofina (ACTH), adrenalina e insulina.

Se estudió también el efecto de la hipofisectomía y la acción de las hormonas enumeradas arriba, en sapos hipofisectomizados.

Se han realizado varios estudios in vivo e in vitro que indican la transformación de glucosa en glucógeno, en animales en ayuno y alimentados y en cortes de hígado de dichos animales (1). La toma de glucosa también ha sido estudiada en el músculo sartorio de la rana *Pipiens* (2,3), en el diafragma aislado de rata (4,5), en el corazón de rata y en el corazón aislado de sapo (8). Esta técnica ha demostrado varias ventajas anotadas en un trabajo nuestro (8).

MATERIAL Y METODOS

Utilizamos sapos machos "Bufo Marinus" de peso entre 130 y 230 gms. con 7 a 15 días de cautiverio. Los cuales fueron alimentados 2 veces por semana con hígado, arroz y banano fermentado. Los sapos fue-

ron anestesiados con éter previamente a la hipofisectomía. Todos fueron descerebrados antes del momento de incubar el corazón aislado, según técnica indicada en estudio anterior (8). La temperatura de incubación osciló entre 24 a 25°C.

Se usó una concentración de glucosa de 5,5 $\mu\text{m}/\text{ml}$ en solución de Ringer (NaCl , 112 nM; KCl , 0.18 nM; CaCl_2 , 0.10 nM; NaHCO_3 , 2.38 nM, NaH_2PO_4 , 0.01 nM a Ph 7.4. Las hormonas empleadas fueron inyectadas por vía saco linfático dorsal así: Insulina en dos dosis diferentes (0.1 y 1 U.I.) por sapo y adrenalina a 200 $\mu\text{g}/\text{sapo}$ 18 horas antes de la incubación de los corazones aislados de sapos normales. Prolactina, GH y ACTH se emplearon a la dosis de 25 U.I. cada 12 horas por 24 horas, 500 μg . cada 12 horas por 48 horas y 2.5 U.I. 18 horas antes del período de incubación respectivamente, tanto en los corazones de sapos normales como en los hipofisectomizados.

Hemos combinado una técnica in vivo con una in vitro realizada por otros autores con resultados satisfactorios (9,10).

La glicemia fue determinada por el método de Nelson (11) y el glucógeno por el método de Krisman (12)

Este trabajo fue auspiciado en parte por el Comité de Investigación Científica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cartagena.

modificado por nosotros en la parte correspondiente a la titulación, la cual fue realizada por hidrólisis.

Los resultados se expresan en microgramos por ml. por gramo de corazón para la toma de glucosa y en microgramos por 100 mg. de tejidos, tomados siempre del ventrículo, para el glucógeno.

RESULTADOS

Los resultados de la toma de glucosa de los animales normales e hipofisectomizados tratados con las hormonas antes anotadas se pueden observar en la Tabla I.

Las determinaciones del glucógeno de estos mismos animales se consignan en la Tabla II.

La toma de glucosa de los corazones normales testigos fue de 1.40 uM/ml/g mientras los normales tratados con prolactina y GH redujeron la toma en relación con los testigos en 41.43% y 79.4% respectivamente.

Los tratados con insulina a la dosis de 0.1 y 1 UI. elevaron la toma en 36.4% y 83.5% respectivamente.

En relación con los hipofisectomizados testigos, los hipofisectomizados tratados con prolactina y GH redujeron la toma de glucosa en un 37.56% y 35.59% respectivamente. Los tratados con adrenalina y ACTH separadamente tuvieron una toma de glucosa similar a sus testigos.

Cuadro #1.-

TOMA DE GLUCOSA POR CORAZONES AISLADOS DE SAPOS NORMALES E HIPOFISECTOMIZADOS TRATADOS CON HORMONAS.-

Toma de Glucosa uM/ml/g	NORMALES TRATADOS CON:							HIPOFISECTOMIZADOS TRATADOS CON:			
	T.	Prolact.	GH.	Adren.	ACTH	Ins.0.1	Ins.1.UI.	T.	Prolact.	GH.	ACTH
	1.40	0.82	0.37	1.30	1.61	1.91	2.57	2.05	1.28	1.30	2.12
	±0.10	±0.10	±0.22	±0.26	±0.90	±0.17	±0.14	±0.10	±0.02	±0.01	±0.17
	(12)	(10)	(10)	(5)	(6)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)	(5)

± = S.E.-

() = NUMERO DE ANIMALES.-

T. = Testigos.-

TABLA # 2.-

DEPOSITO DE GLUCOGENO EN CORAZON AISLADO DE SAPOS NORMALES E HIPOFISECTOMIZADOS TRATADOS CON HORMONAS.-

DEPOSITOS DE GLUCOGENO 100 mg %	NORMALES TRATADOS CON HORMONAS.-							HIPOFISECTOMIZADOS TRATADOS CON HORMONAS:-			
	T.	Prolact.	GH.	Adren.	ACTH	Ins.0.1	Ins.1.UI.-	T.	Prolact.	GH	ACTH
	382	599	577	377	844	761	1.020	1.056	447	770	750
	± 47	±66.5	±50.7	±84	±146	±71	±81.4	±58	±101	±226	±77.5
	(12)	(10)	(10)	(5)	(6)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)	(5)

El glucógeno de los corazones normales fue de 382 ug.%; los corazones normales tratados con prolactina, GH y ACTH aumentaron la formación de glucógeno significativamente (p.0.02). La formación de glucógeno de los corazones de animales normales tratados con insulina a las dosis indicadas fue altamente significativa (P 0.0001) en relación con los testigos.

Los corazones de animales hipofisectomizados tuvieron una elevación altamente significativa de la formación de glucógeno (P 0.0001), en relación con los normales; pero se observó una reducción de los niveles de glucógeno en los hipofisectomizados tratados con prolactina GH y ACTH, de 57.67%, 27.09% y 29% respectivamente en comparación con el nivel de glucógeno de los testigos (Tabla II). Los hipofisectomizados tratados con ACTH mostraron un aumento significativo de la formación de glucógeno (P. 0.01) cuando se comparan con los normales.

Los animales normales tratados con insulina tuvieron un aumento de glucógeno muy significativo para ambas dosis (P 0.001), o sea que a las dosis de 0.1 y de 1 U.I. de insulina se obtuvo un aumento de los depósitos de glucógeno de 99.21% y de 193.19% respectivamente.

DISCUSION

Hemos observado que en el corazón aislado de sapo ofrece grandes ventajas para el estudio de la toma de glucosa y el depósito de glucógeno, estimulado por la inyección de diferentes hormonas por el saco linfático dorsal.

Existen estudios de las concentraciones de glucógeno en el corazón de sapos normales, hipofisectomizados y pancreatetectomizados Penhos y

Lavintman (13), Houssay y Colaboradores (14). El valor del glucógeno en nuestros sapos normales fue bajo, pero los hipofisectomizados presentaron un valor similar a los hallados por Penhos y Lavintman (13).

Hemos observado una disminución de la toma de glucosa por el corazón aislado de sapos normales e hipofisectomizados tratados con prolactina y GH., Morgan y Col. (15) han observado una depresión moderada de transporte de glucosa en mamíferos tratados con GH y Cortisona durante 5 días. Goodman (16) observó disminución de la toma de glucosa en el diafragma aislado de rata 3 horas después de inyección I.V. de 100 ug. de GH a ratas hipofisectomizadas. Houssay y Biassotti, (17,18,19); Houssay y Penhos (20); Houssay, A.B. (21) han observado que extractos de la pituitaria anterior o sus hormonas tienen acción diabética en los animales hipofisectomizados, pancreatetectomizados y adrenalectomizados. Riddle y colaboradores (22) encontraron que la prolactina libre de ACTH no modificaba el azúcar sanguíneo de las palomas en ayunas. La prolactina inyectada a perros hipofisectomizados, pancreatetectomizados reduce la sensibilidad a la insulina en estos animales. De Bodo y Sinkoff (23); De Bodo, Sinkoff, Den y Kiang (24). La GH aumenta la resistencia a la insulina en perros pancreatetectomizados - adrenalectomizados y en adrenalectomizados, de Bodo y Sinkoff (25), Lanzarus y Volk (26).

Los animales normales tratados con insulina mostraron un incremento de la toma de glucosa. Este efecto ha sido observado por nosotros (Penhos, Luján y Uno (8), Nairahara y Col. (3), Figueroa, Pfeifer y Clasing (27) usando glucosa C14

ha observado su incorporación al diafragma de ratas estimuladas por la insulina.

Los animales normales tratados con prolactina, GH, ACTH e insulina aumentaron el nivel de glucógeno. Un efecto similar fué observado por Riddle y colaboradores en las palomas normales tratadas con prolactina (22). Rafaelsenn (9,10), encontró un aumento del glucógeno en el diafragma aislado de ratas tratadas intraperitonealmente con GH; con insulina a la dosis de 0.1 y 1 U.I. obtuvo 25-50% y 200-400% de aumento de glucógeno respectivamente. Nosotros, usando las mismas dosis de insulina obtuvimos un incremento de los depósitos de glucógeno de 99.25% y 193.19% respecto a cada una de las dosis empleada. Este fenómeno ha sido observado por otros investigadores (26).

La presencia de glucosa en el medio (27 y 28) aumenta la síntesis de glucógeno, la cual es favorecida por las hormonas de la anterohipófisis por vías metabólicas diferentes.

Los animales hipofisectomizados testigos tienen una toma de glucosa altísima; este fenómeno ha sido ob-

servado por varios investigadores (8,29,30) y la formación de glucógeno se aumenta. Cuando los animales hipofisectomizados son tratados con prolactina o GH, reducen la toma de glucosa en relación con sus testigos, y reducen también los depósitos de glucógeno en los corazones de estos animales. Esto se debería a la acción diabetógena de las hormonas hipofisarias usadas y a que la GH y la prolactina aumentan la resistencia a la insulina.

El ACTH no altera la toma de glucosa de los corazones normales ni hipofisectomizados, pero el glucógeno de ambos está aumentado, lo que se debería a una neoglucoénesis via suprarrenal, como lo ha demostrado Long y colaboradores (31) y De Wulf y Hers (32).

La adrenalina no produjo alteración de la toma de glucosa, pero si un ligero descenso del glucógeno, el cual no es significativo estadísticamente.

Los experimentos realizados muestran la interrelación existente entre la hipófisis y el páncreas y su acción a nivel del tejido muscular cardíaco.

BIBLIOGRAFIA

- 1—Cori, C. F.; J. Biol. Chem.; 1.926,70,577.
- 2—Courley, O.R.H.: Fed. Proc., 1.959,18,58.
- 3—Naraharan, H.T.; Ozand, P.; Cori, C.F.: J. Biol. Chem., 1.960,235,3.370.
- 4—Gemmill, C.L.: Johns Hopk, Hosp. Bull., 1.941,68,329.
- 5—Krahl, M.E.; Cori, C.F.: J. Biol. Chem., 1.947,170,607.
- 6—Fisher, R.B.; Lind Say, D.B.: J. Phy Sial, (Tond), 1.956,131,526.
- 7—Park, C.R.; Reinwein, S.; Henderson, M.J.; Cárdenas, E. Morgan, H.E.; Amer. J. Med. 1959,25,674.

- 8—Penhos, J. C.; Luján, M.A.; Uno, B.: *Acta Physiol. Latinoam.* 1.964,14,392.
- 9—Rafael Sen, O.J.: *Acta Physiol. Scand.*, 1.964,61,324.
- 10—Rafael Sen, O.J.: *Acta Physiol. Scand.*, 1.964,61,314.
- 11—Nelson, N.: *J. Biol. Chem.*, 1.944,123,375.
- 12—Krisman, C. *Annal. Biocen.* 1.962,4,17.
- 13—Penhos, J.C., And Larintman, N.: *General. Com. Endocrinol.* 1.964,4,264.
- 14—Houssay, B.A., Mazzoco, P. and Rietti, C.T., 1.925;1,227.
- 15—Morgan, H.E., Cadenas, E. and Park, C.R., *The Mechanism of Action of Insulin (Symposium)* 1.960,19.
- 16—Goodman, H. M., *Endocrinology*, 1.967,81,1.099.
- 17—Houssay, B.A. and Biasotti, A.: *Rev. Sec. Argent. Biol.*, 1.930,6,8.
- 18—Houssay, B.A. y Biasatti, A.: *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1.933,9,29.
- 19—Houssay, B.A. y Biasatti, A. *Rev. Soc. Argent. Biol.* 1.936,12,104.
- 20—Houssay, B.A. and Penhos, J.A., *Endocrinology*, 1.956,59,1.937.
- 21—Houssay, A.B., *Tesis de la Fac. Med. Bs. Aires*, 1.945.
- 22—Riddle, O., L.B. Actti, D.E. Odooyke and R. W. Bates: *Carnegie Inst. of Washington, Pub. 569: Washington*, 1.947.
- 23—De Bodo, R.C. and M. W. Sinkoff: *Am. N.Y. Acad. Sci.*, 1.953,57,23.
- 24—De Bodo, R.C., M.W. Sinkoff, H. Den and S.P. Kiang: *Fed. Proc.* 1.953,12,32.
- 25—De Bodo, R.C., and M.W. Sinkoff: *Diabetes*, 1.954,3,87.
- 26—Lazarus, S.S. and B.W. Volk: *Metabol. Clin. Exper.*, 1.952,1,355.
- 27—Figueroa, E.A., Pfeifer y M. Clasing: *Arch. Biol. Med. Exper.* 1.964,1,205.
- 28—De Wulf, H., and Hers, H.G.: *European J. Biochem.* 1.967,2,50.
- 29—Krahl, M.O.; Park, C.R.: *J. Biol. Chem.*, 1.948,174,939.
- 30—Bornstein, J.: Nelson J.F.: *Nature (Tond)*, 1.948,162,572.
- 31—Long, C.N., Katzin, B. and Fry, 7.G. *Endocrinology*, 1.940,26,309.
- 32—De Wulf, H. and H.G.: *European J. Biochem.*, 1.967,2,57.