

Efectos de la dihidroxicorticosterona sobre el transporte de aminoácidos neutros en páncreas de rata aislado y perfundido

Los glucocorticoides pueden modular el transporte de aminoácidos a través de las membranas celulares inhibiéndolo, estimulándolo o ejerciendo efectos permisivos sobre la acción de otras hormonas (5). Así, la administración *in vivo* de dihidroxicorticosterona (DHC) modifica los parámetros cinéticos del transporte de L-serina en páncreas de rata (4), de modo similar a la diabetes (6), estimulando posiblemente el componente de baja afinidad de dicho transporte (8). Sin embargo, no pudo determinarse si se trataba de una acción directa del corticoide o mediada por sus efectos diabetogénicos y/o tróficos sobre el páncreas (9).

En el presente estudio, se utilizaron ratas Wistar machos de 200-250 g en ayunas de 24 horas. Tras anestesia con uretano al 20% (8 ml/kg, i.p.), se procedió al aislamiento y perfusión del páncreas *in situ* (7) con una solución Krebs-Henseleit suplementada con 3% dextrano T-70 (Pharmacia) y en albúmina sérica bovina 2% (Sigma). En esta preparación se examinó el efecto de la DHC 10^{-5} M (Actocortina, Leo) sobre el consumo unidireccional de L-(3- H^3) serina (37 Ci/mmol, Amersham) aplicando una técnica de dilución de trazadores de alta resolución (10), en la que el D-(1- C^{14}) manitol (52 mCi/mmol, New England Nuclear, R.F.A.) sirvió como trazador extracelular de referencia. En síntesis, tras una inyección en bolo (100 μ l/2 s) de una mezcla conteniendo ambos trazadores, en el aporte arterial de la preparación, se reco-

jen 16 muestras de 90 μ l del efluente venoso en 45-60 s más una muestra final en la que se acumula dicho efluente durante 4 minutos. La captación del aminoácido (U) se mide, en cada muestra venosa sucesiva, aplicando la expresión: $U = 1 - \frac{L-(3-H^3) \text{ serina}}{D-(1-C^{14}) \text{ manitol}}$. Conocida la captación máxima (U_{max}), puede calcularse su influjo unidireccional de acuerdo con: $\text{Influjo} = -F \cdot Ca \cdot \ln(1 - U_{max})$; donde F es el flujo de perfusión (ml/min/g de peso húmedo) y Ca es la concentración de L-serina no marcada en el medio de perfusión (mM).

Se realizaron mediciones a los 20, 40, 60 y 80 min de perfusión con la hormona, previa exposición de la glándula a L-serina no marcada 20 mM durante 4 minutos. Los resultados obtenidos (tabla I) muestran que, en presencia de D-glucosa 5,5 mM, el efecto estimulador de la DHC es observable sólo tras 80 min de perfusión ($p < 0,005$); en tanto que, en medio libre de glucosa, dicho efecto es más intenso y medible desde el minuto 20.

De acuerdo con BARSEGHIAN y LEVINE (1), la rápida estimulación del transporte de L-serina, inducida por la DHC en ausencia de glucosa, podría estar mediada por la liberación de glucagón pancreático. Para comprobar esta hipótesis, se midió el influjo unidireccional de L-serina en presencia de glucagón 10^{-7} M (Glucagón porcino, Novo) en el medio de perfusión, con resultados prácticamente idénticos a los obtenidos con DHC en medio libre de glucosa (tabla I).

Tabla I. *Influjo unidireccional de L-serina ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{g}$; Media $\pm$ SD) en páncreas de rata aislado y perfundido in situ.*

Las preparaciones se perfundieron con solución Krebs-Henseleit conteniendo albúmina sérica bovina al 2%, dextrano T-70 al 3% y D-glucosa 5,5 mM (Control) a la que se añadió DHC 10^{-5} M (en presencia o ausencia de glucosa) o glucagón (GLC) 10^{-7} M, manteniéndose la estimulación hormonal durante todo el período experimental. Previa perfusión de la preparación con solución conteniendo L-serina no marcada, se midió su influjo unidireccional en los tiempos indicados. Entre paréntesis número de determinaciones. La significación estadística, con respecto al grupo control, se valoró aplicando un test *t* de Student bilateral para datos no apareados (* $p < 0,005$; ** $p < 0,02$).

Grupo experimental	20	Tiempo de perfusión (min)		
		40	60	80
Control (5,5 mM D-glucosa)	11,6 $\pm$ 1,0 (5)	12,3 $\pm$ 1,4 (5)	10,2 $\pm$ 1,7 (5)	9,8 $\pm$ 1,0 (5)
DHC 10^{-5} M (5,5 mM D-glucosa)	13,2 $\pm$ 1,1 (4)	13,5 $\pm$ 0,8 (4)	12,2 $\pm$ 1,3 (4)	12,7 $\pm$ 0,8 (4)*
DHC 10^{-5} M (0,0 mM D-glucosa)	19,0 $\pm$ 0,9 (3)*	18,6 $\pm$ 2,3 (3)*	17,9 $\pm$ 0,6 (3)*	15,2 $\pm$ 1,3 (3)*
GLC 10^{-7} M (5,5 mM D-glucosa)	17,6 $\pm$ 0,5 (3)*	18,7 $\pm$ 2,1 (3)*	16,1 $\pm$ 3,1 (3)**	16,9 $\pm$ 2,4 (3)*

La falta de efecto estimulador del glucagón, señalada por otros autores en lóbulos pancreáticos (2) podría ser debida a una pérdida de sensibilidad a la hormona por esta preparación (3), análoga a la que presenta a la insulina (6).

Los resultados obtenidos sugieren un doble efecto estimulador de la DHC sobre el transporte de aminoácidos neutros en páncreas de rata, en función del grado de glucemia: uno directo, posiblemente mediado por la síntesis *de novo* de proteínas transportadoras, y otro indirecto, mediado por el glucagón; al tiempo que muestran, por primera vez, un efecto estimulador del glucagón, tanto exógeno como endógeno, sobre dicho transporte.

Palabras clave: Transporte, Aminoácidos, Páncreas, Corticoides, Glucagón.

Key words: Transport, Amino acids, Pancreas, Corticoids, Glucagon.

Bibliografía

1. Barseghian, R. y Levine, L.: *Endocrinology*, 106, 547-551, 1980.
2. Bieger, W., Weicker, H. y Haymovits, A.: *Horm. Metab. Res.*, 11, 352-358, 1979.
3. Christensen, H. N.: *Fisiol. Rev.*, 62, 1193-1233, 1982.

4. De Diego, A. M., Muñoz, M., Perán, S. y Saiz, M. T.: *Endocrinología*, 34, 115-119, 1987.
5. Guidotti, G. G., Borghetti, A. F. y Gazzola, G. C.: *Biochim. Biophys. Acta*, 515, 329-366, 1978.
6. Mann, G. E. y Norman, P. S. R.: *Biochim. Biophys. Acta*, 778, 618-622, 1984.
7. Mann, G. E., Norman, P. S. R., Habara, Y., Muñoz, M. y Perán, S.: En «Carrier mediated transport of solutes from blood to tissues» (D. L. Yudilevich y G. E. Mann, eds.). Longman, Londres, 1985, pp. 77-98.
8. Mann, G. E. y Perán, S.: *Biochim. Biophys. Acta*, 858, 263-274, 1986.
9. Morisset, J. y Jolicœur, L.: *Am. J. Physiol.*, 239, G95-G98, 1980.
10. Yudilevich, D. L. y Mann, G. E.: *Fed. Proc.*, 41, 3045-3053, 1982.

M. MUÑOZ*, S. PERÁN** y M. T. SAIZ.

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
29080 Málaga (España)

(Recibido el 1 de junio de 1987)

* Dirección actual: Departamento de Fisiología, King's College (Kensington Campus), University of London, Campden Hill Road, London W8 7AH (U.K.).

** A quien debe dirigirse toda la correspondencia.