

Laboratorio de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias
Universidad de Barcelona
(Prof. F. Ponz)

Efectos del glucagón sobre la absorción intestinal de glucosa

por F. Ponz M. Lluch y J. Planas

(Recibido para publicar el 18 de enero de 1957)

La influencia de factores endocrinos en la absorción intestinal de azúcares ha sido objeto de numerosas investigaciones. En cuanto a la acción de la insulina, MAC KAY y CLARK (3) observaron que la absorción de glucosa era mayor en las ratas a las que se les había administrado. SOULARIAC (10) confirmó estos resultados, encontrando aumentos de absorción muy notables por tratamiento insulínico, mientras que las ratas aloxánicas mostraban un comportamiento variable, de inhibición o aumento, según la dosis. De otra parte, PAULS y DRURY (4) refieren que en ratas diabéticas la absorción está aumentada y LASZT y VOGEL (1) mostraron lo mismo, al propio tiempo que veían que si las ratas aloxánicas se trataban con insulina, la absorción era prácticamente normal. SOIS, VIDAL y LARRALDE (9) estudiaron el efecto de la administración endovenosa de insulina en animales diabéticos y dedujeron que su efecto propio era el de activar la absorción. En ratas normales (7) la inyección endovenosa de insulina inmediatamente antes de una absorción, produce aumentos de un 10 %, en tanto que no tiene efecto disuelta en la solución de glucosa a absorber.

La adrenalina inhibe rápidamente la absorción intestinal de glucosa (10) pero esta acción se atribuye preferentemente a su efecto vegetativo más que a su acción hiperglucemiante. LLUCH (2) ha encontrado efectivamente inhibición de la absorción por diversos vasoconstrictores.

Hemos querido ensayar por ello en la rata la acción sobre la absorción intestinal de glucosa del factor hiperglucemiante y glucogenolítico del páncreas (glucagón) que carece de acción vascular.

Material y Métodos

Se han empleado ratas blancas adultas, criadas en nuestro laboratorio, anestesiadas con uretano 12 %. La absorción intestinal de glucosa se investigó por el método de SOLS y PONZ de absorciones sucesivas (8). La longitud de intestino utilizada era de unos 20 cm. y se expresa para cada animal en las tablas respectivas. La temperatura rectal del animal se mantenía prácticamente constante ($\pm 0,3^\circ \text{C.}$) durante las absorciones sucesivas. El tiempo de absorción ha sido de 15 ó de 30 minutos según las experiencias.

Empleamos siempre solución isotónica de glucosa (5,4 %) y se determina la glucosa absorbida con el reactivo de SOMOGY (6).

Se ha empleado el glucagón amorfo LILLY (Lote n.º 208-158 B-197) *. Se administra por vía subcutánea o endovenosa (en la vena caudal), según las experiencias.

Los resultados se expresan en las tablas en micromoles de glucosa absorbida por centímetro de longitud de intestino (12).

Resultados

1. — EFECTO DEL GLUCAGÓN POR VÍA SUBCUTÁNEA

Se han estudiado dosis de glucagón comprendidas entre 0,04 y 1 mgr. por animal, que se administran por vía subcutánea al empezar la segunda absorción. Como se observa en la tabla I, no se aprecia ninguna acción sobre la absorción intestinal de glucosa en la rata a dichas dosis.

TABLA I

Absorciones sucesivas (30 minutos) de glucosa (5,4 %) por intestino de rata, con inyección subcutánea de glucagón entre la 1.ª y la 2.ª absorciones.

Peso gr.	Long. asa cm.	Glucagón mg.	μM de glucosa absorbida/cm.					
			1.ª	2.ª	Inh. %	3.ª	Inh. %	4.ª
125	29	0,04	44	44	—	42	—	44
150	26	0,1	38	39	—	38	—	38
135	33	1	37	38	—	38	—	36
118	27	1	41	42	—	43	—	40

* Damos las gracias al Dr. W. R. Kirtley, de la casa Eli Lilly, por el envío del glucagón.

2. — ACCIÓN DEL GLUCAGÓN POR VÍA ENDOVENOSA

Se efectúan absorciones sucesivas de glucosa a intervalos de 30 minutos, en ratas con administración de glucagón por vía endovenosa al empezar las segundas absorciones, con dosis comprendidos entre 0,02 y 0,04 mgr. por animal. Los resultados expresados en la tabla II, muestran como dichas dosis carecen de efecto sobre la absorción intestinal.

Sin embargo, la administración de una dosis mayor de glucagón (de 0,1 mgr. a 1 mgr. por animal) al empezar las segundas y cuartas absorciones, origina una inhibición media en la segunda absorción del 15 %, que disminuye algo en la tercera absorción para volver a aumentar después de una nueva dosis al comenzar la cuarta absorción. Los valores de estas experiencias pueden apreciarse también en la Tabla II.

TABLA II

Absorciones sucesivas (30 minutos) de glucosa (5,4 %) por intestino de rata, con inyección intravenosa de glucagón antes de la 2.^a y de la 4.^a absorciones

Peso gr.	Long. asa cm.	Glucagón mg.	μ M de glucosa absorbida/cm.					
			1. ^a	2. ^a	Inh. %	3. ^a	Inh. %	4. ^a Inh. %
172	22	0,02	47	45	—	48	—	46 —
120	27	"	28	29	—	30	—	30 —
150	25	"	45	42	—	45	—	43 —
132	26	"	41	44	—	43	—	44 —
94	26	0,04	37	39	—	37	—	36 —
120	20	"	50	46	8,0	51	—	50 —
115	20	0,1	42	39	7,1	39	7,1	31 26,2
130	23	"	43	36	16,3	40	6,9	36 16,3
138	19	"	55	41	25,4	49	10,9	47 14,4
125	20	"	47	42	10,6	43	8,5	35 25,5
160	22	1	38	44	16,0	38	—	44 16,0

Se han realizado igualmente experiencias con absorciones sucesivas de 15 minutos, ya que el efecto hiperglucemiante del glucagón por vía endovenosa se manifiesta con su máxima intensidad en los primeros 5 a 10 minutos de su administración. Se practican en cada animal 6 absorciones sucesivas, inyectándose el glucagón inmediatamente antes de empezar las segundas, cuartas y sextas absorciones. Empleamos dosis de 0,02 a 1 mgr. en cada inyección. Los resultados obtenidos se expresan en la tabla III. En ella puede verse que la dosis de 0,02 mgr. carece en absoluto de efecto sobre la absorción intestinal. Dosis diez veces superiores, ejercen ya una clara inhibición siendo

Absorciones sucesivas (15 minutos) de glucosa (5,4 %) por intestino de rata, con inyección intravenosa de glucagón antes de la 2.^a, 4.^a y 6.^a absorciones

Peso gr.	Long. asa cm.	Glucagón mg.	μ M de glucosa absorbida/cm.										
			1.*	2.*	Inh. %	3.*	Inh. %	4.*	Inh. %	5.*	Inh. %	6.*	Inh. %
164	20	0,02	14			16	—	14	—	14	—	15	—
165	23	"	18	17	—	17	—	19	—	19	—	17	—
167	14	"	20	22	—	21	—	20	—	20	—	20	—
140	22	0,2	31	31	—	31	—	26	16,1	23	25	25	19,3
125	20	"	19	16	15,8	26	—	15	21	19	—	16	15,8
120	22	"	21	18	14,3	18	14,3	15	28,5	15	28,5	14	33,3
147	22	"	35	30	14,3	32	8,6	23	34,3	24	31,4	22	37,1
	22	"	28	20	28,5	24	14,2	23	17,8	23	17,8	22	21,4
205	20	1	48	38	20,8	38	20,8	36	25	34	29,1	32	33,4
132	22	"	31	25	19,4	25	19,4	24	22,5	24	22,6	20	35,8
143	20	"	49	37	24,4	37	24,4	36	26,5	36	26,5	34	30,6
137	21	"	32	25	21,8	25	21,8	23	28,1	23	28,1	22	31,1
155	21	"	19	23	21	24	26,3	24	26,3	23	21,0	26	36,9
155	21	"	26	30	15,5	26	—	33	26,9	30	15,5	30	15,5

máxima en las sextas absorciones (25 %). Dosis de 1 mgr. provocan igualmente inhibiciones de la absorción de glucosa, siendo ésta también máxima en la última (33 %). Las absorciones que no van precedidas de inyección de glucagón (3.^{as} y 5.^{as} absorciones), muestran una ligera recuperación de la capacidad absorbente del intestino.

Era interesante conocer el nivel hiperglucémico alcanzado como consecuencia de la administración de glucagón durante la serie de absorciones sucesivas de glucosa. Se han hecho así varias experiencias de seis absorciones sucesivas de glucosa en que se inyectaba 1 mgr. de glucagón antes de la 2.^a, 4.^a y 6.^a absorciones, tomando muestras de sangre de la femoral inmediatamente después de estas mismas absorciones. En la tabla IV puede apreciarse una notable hiperglucemia creciente en el curso de la experiencia. En la tabla no se indica el azúcar absorbido porque como ha sido demostrado (2) las pérdidas de sangre reducen algo la absorción.

TABLA IV

Valores de glucemias durante absorciones sucesivas (15 minutos) de glucosa (5,4 %) por intestino de rata, con inyección de 1 mg. de glucagón antes de la 2.^a, 4.^a y 6.^a. Muestras de sangre tomadas antes de la experiencia y después de las 2.^a, 4.^a y 6.^a absorciones

Peso gr.	Long. asa cm.	Glucemias (gr./litro)			
		Muestra I	Muestra II	Muestra III	Muestra IV
175	18,6	0,90	2,0	2,22	—
130	24	1,12	2,31	2,92	4,04
125	28,8	1,10	1,53	2,02	2,53

Las hiperglucemias alcanzadas no pueden atribuirse sin embargo, al efecto exclusivo del glucagón. Ratas que reciben las mismas cantidades de glucagón en tiempos correspondientes, pero que no absorben glucosa no presentan tales hiperglucemias. Como se ve en la tabla V, el efecto hiperglucemiante se aprecia sólo después de la primera inyección y es más bajo que si absorben glucosa. Las siguientes administraciones de glucagón carecen de efecto y las glucemias son normales o inferiores.

Hemos querido ver si la inhibición de la absorción de glucosa por efecto del glucagón podía atribuirse a las hiperglucemias provocadas. Para ello, en un lote de ratas, se han hecho de cuatro absorciones sucesivas de glucosa de 30 minutos cada una administrando en la 1.^a y la 2.^a una sobrecarga de glucosa (300 mgr. en 2 c. c.), por inyección en la vena caudal. En uno

TABLA V

Variaciones de la glucemia por inyección de 1 mg. de glucagón en tiempos correspondientes a las experiencias de la Tabla IV, en animales que no absorben glucosa

Peso gr.	Long. asa cm.	Glucagón mg.	Glucemias (gr./litro)					
			1.ª	2.ª	3.ª	4.ª	5.ª	6.ª
137	—	1	1,07	1,33	0,36	0,54	0,44	0,44
142	—	"	0,97	1,20	0,72	0,60	0,58	0,45
122	—	0,2	1,00	1,48	1,25	1,16	1,05	0,88
163	—	"	1,01	1,14	0,94	0,53	0,48	0,42
152	—	0,02	0,95	1,74	1,50	1,10	0,82	0,80
155	—	"	1,00	1,46	1,23	1,10	0,87	—
174	—	"	0,99	1,68	1,53	1,23	0,90	0,95

de los animales se determinó la glucemia antes de la absorción y después de la 2.ª y 3.ª En los demás para evitar los riesgos de hemorragia nos limitamos a determinar las glucemias al final de las experiencias. En la tabla VI pueden verse los resultados. La sobrecarga de glucosa endovenosa que necesariamente ha de producir una notable hiperglucemia, no afecta la absorción inmediata ni a las sucesivas. Las glucemias finales son del orden de las que se conseguían por administración de glucagón durante la absorción.

TABLA VI

Absorciones sucesivas (30 minutos) de glucosa (5,4 %) por intestino de rata, con inyección intravenosa de 300 mg. de glucosa entre la 1.ª y 2.ª absorciones. Aparecen entre paréntesis los valores de glucemia

Peso gr.	Long. asa cm.	μ M de glucosa absorbida/cm.			
		1.ª Abs.	2.ª Abs.	3.ª Abs.	4.ª Abs.
127	23	51	52	50	49 (0,83)
129	21	33	35	34	34 (2,85)
139	30	44	44	45	45 (1,60)
141	29	41	44	40	44 (1,33)
169	22	56	56	50	55 (1,05)
170	24	49	55	53	57 (2,28)
238	19	(1,05) 57	57	57 (1,51)	61 (1,43)

Peso gr.	Long. asa cm.	μ M de glucosa absorbida/cm.					
		1.ª Abs.	2.ª Abs.	3.ª Abs.	4.ª Abs.	5.ª Abs.	6.ª Abs.
174	25	(1,0) 41	42	42	40	41	40 (2,45)
202	24	(0,9) 39	38	37	40	39	40 (1,90)

El comportamiento de la glucemia en el primer animal de la tabla, revela, sin embargo, que sin administración de glucagón el organismo tiene una capacidad de regulación de la glucemia bastante buena, manteniéndose ésta no muy aumentada. La inyección repetida de glucagón, en cambio suele acompañarse de aumentos crecientes de glucemia como si el animal fuera incapaz de mantener el nivel glucémico ante la absorción continuada de glucosa por el desequilibrio provocado por el exceso de factor hiperglucemiante.

Discusión

La administración endovenosa del glucagón ejerce un efecto inmediato inhibitor sobre la absorción intestinal de glucosa, opuesto por tanto, a la estimulación encontrada con insulina endovenosa (7). La fig. 1 muestra el comportamiento típico con dosis de 0,1 mgr. (4 absorciones sucesivas) y 0,2 mgr. (6 absorciones).

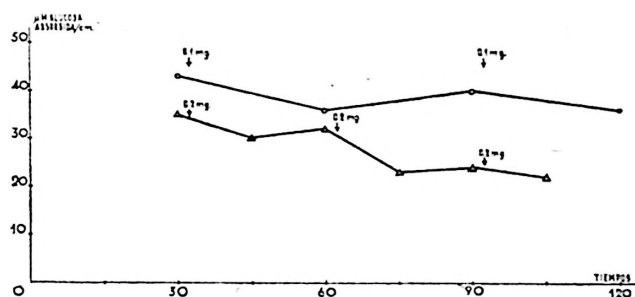


Figura 1. - Efecto del glucagón sobre la absorción intestinal de glucosa

Como quiera que el glucagón produce una marcada hiperglucemia, podía pensarse en que al estar elevado el nivel glucémico se dificultara el transporte de glucosa por el intestino hacia la sangre. Sin embargo, las experiencias en que se estudia la influencia de la hiperglucemia provocada por inyección endovenosa de glucosa, muestran que no debe atribuirse la inhibición a un aumento del nivel glucémico. Al inyectar la glucosa hipertónica se consiguieron hiperglucemias muy altas, un 100 a 150 % sobre las normales, sin que se afectara la absorción intestinal de glucosa.

El efecto del glucagón no puede así atribuirse a una influencia indirecta por la hiperglucemia provocada. Más bien hay que pensar en que el glucagón, directa o indirectamente, modifica el metabolismo de la mucosa intestinal de modo que disminuya la capacidad de absorción

En este último sentido, son importantes los trabajos de Sutherland y colaboradores (5, 11, 15) en torno al mecanismo de acción del glucagón en el hígado. Según sus resultados el glucagón facilitaría la fosforilación de la fosforilasa inactiva desde el ATP para pasarla a fosforilasa activa, reacción catalizada por una defosforilasa-kinasa hepática, y también parece ser eficaz sobre fosfoquinasas solubles. Aunque no conocemos un efecto del glucagón fuera del hígado, podría ser que en la mucosa intestinal ejerza directamente una variación del metabolismo glucídico en relación con el transporte de glucosa, por afectar sistemas enzimáticos implicados de un modo u otro en dicho proceso.

En todo caso es de interés que la insulina y el glucagón, que muestran una acción antagónica sobre el metabolismo glucídico, afectan también de modo opuesto la penetración de glucosa a través de la mucosa intestinal.

Resumen

Se ha estudiado la acción del glucagón sobre la absorción de glucosa por el intestino de la rata.

La administración del preparado por vía subcutánea carece de efecto, mientras que por vía endovenosa, a partir de cierta dosis, ejerce acción inhibidora.

Esta inhibición no es debida a la hiperglucemia provocada por el glucagón. Hiperglucemias provocadas por administración endovenosa de 300 mgr. de glucosa no afectan la absorción.

Summary

Effect of glucagon on intestinal absorption of glucose

Various authors have demonstrated an increase in the intestinal absorption of glucose produced by the administration of intravenous insulin in normal and diabetic rats (1,3,4,7,9). Adrenaline on the other hand, provokes inhibition (10), although this effect must be interpreted as being produced by its vasoconstrictor action (2,10). In the present work a study has been made in rats of the effect of glucagon, which has glycogenolytic action and not a vascular one.

The technique used was that of Sols and Ponz of successive absorptions in intestine «in situ» (8), with loops of 20 cm. in length and absorption times of 15 to 30 minutes.

Glucose solution was 5.4 %, residual sugar being evaluated by the Somogyi reagent. Glucagon (amorphous glucagon, Lilly) was given by subcutaneous or intravenous (caudal vein) route. Results are given in micromols of glucose absorbed by cm. of

intestine. The subcutaneous injection of glucagon (from 0.04 to 1 mg.) between the 1st and 2nd absorption does not affect any of the 3 following absorptions, each one of 30 minutes (Table I).

On the other hand, glucagon given by intravenous route is active from a dose of 0.1 mg. which inhibits the later absorptions (30 minutes) to approximately 15 % (Table II).

Other experiments were made with 6 successive absorptions of 15 minutes each, injecting glucagon (intravenously) before the 2nd, 4th and 6th. Thus 20 to 30 % inhibitions are reached with a dose of 0.2 to 1 mg. per animal (Table III).

The glycaemia curve corresponding to these latter experiments was determined. The hyperglycaemia increase, with the absorption of glucose and the injection of glucagon (Table IV). On the other hand glucagon administered to animals not absorbing glucose, produces slighter hyperglycaemia and only after the 1st injection; further injections of glucagon have no effect and the glycaemia is normal or low (Table V).

A group of animals were submitted to hyperglycaemia by injecting 300 mg. of glucose into the caudal vein between the 1st and 2nd absorption. (Table VI, absorption of 30 minutes). The hyperglycaemia provoked does not appreciably modify the capacity of absorption.

Results show an inhibiting effect of glucagon on intestinal absorption of glucose, not attributable to the increase glycaemia provoked. It is suggested that there is a direct action of glucagon on the metabolism of intestinal glucose related to the active transport of glucose.

Bibliografía

- (1) LASZT, L. y VOGEL, H. : *Nature*, **157**, 551, 1946.
- (2) LLUCH, M. : *R. esp. Fisiol.*, **10**, 275, 1954.
- (3) MAC KAY, E. M. y CLARK, W. G. : *Am. J. Physiol.*, **135**, 187, 1941.
- (4) PAULS, F. y DRURY, D. R. : *Am. J. Physiol.*, **137**, 242, 1942.
- (5) RALL, T. W., SUTHERLAND, E. W. y WOSILAIT, W. D. : *J. Biol. Chem.*, **218**, 483, 1956.
- (6) SOLS, A. : *R. esp. Fisiol.*, **5**, 149, 1949.
- (7) SOLS, A. : *R. esp. Fisiol.*, **7**, 1, 1951.
- (8) SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **3**, 207, 1947.
- (9) SOLS, A., VIDAL, S. y LARRALDE, J. : *Nature*, **161**, 932, 1948.
- (10) SOULAIRAC, A. : *Bul. Biol. Fr. et Belg.*, **81**, 274, 1947.
- (11) SUTHERLAND, E. W. y WOSILAIT, W. D. : *J. Biol. Chem.*, **218**, 459, 1956.
- (12) VIDAL-SIVILLA, S., SOLS, A. y PONZ, F. : *R. esp. Fisiol.*, **6**, 195, 1950.
- (13) WOSILAIT, W. D. y SUTHERLAND, E. W. : *J. Biol. Chem.*, **218**, 469, 1956.

