

R. Esp. Fisiol.
Tom. I, núm. 1, páginas 38 a 49. 1945.

Cátedra de Fisiología Animal de la Fac. de Ciencias de Barcelona
(Prof. F. Ponz)

Influencia de la Lactoflavina sobre la glucemia

FRANCISCO PONZ

Introducción

Ha sido demostrada por muchos autores la intervención de la lactoflavina en el metabolismo hidrocarbonado. Acerca de su influencia sobre la glucemia concretamente, encontró SCHRÖDER (1937) que en enfermos de diabetes y en conejos la inyección intravenosa de lactoflavina descende la glucemia; en hombres sanos, por el contrario, parecía no tener efecto decidido; los diabéticos podían mejorar la tolerancia para la glucosa, administrada tanto por vía oral como por inyección intravenosa, por aporte de vitamina B₂; en las ratas avitaminósicas B que recibían 0,1 mg. diarios de riboflavina en inyección subcutánea se conseguía aumentar el glucógeno hepático mientras quedaba invariable el contenido del corazón y músculo esquelético.

Más tarde, ALBRICH y BEIGBBÖCK (1933) han confirmado los resultados de SCHRÖDER y estudiaron las influencias que ejerce la administración de lactoflavina sobre la curva de hipoglucemia insulínica, observando que se refuerzan las fluctuaciones posteriores hipoglucémicas, aunque sin resultados unitarios.

En conejos y lactantes investigaron LEONE y MURGIA (1940) la glucemia y colesterinemia tras la administración de vitamina B₂; según ellos, la lactoflavina no tiene efecto sobre la colesterinemia mientras que sobre la glucemia el resultado

varía con la dosis: las inferiores a 1 mg. descienden algo la glucemia mientras que con dosis mayores los resultados no son unitarios; el estado en que se encuentra el sistema nervioso vegetativo del animal jugaría un importante papel en el efecto de la lactoflavina.

En el curso de nuestros trabajos en el Instituto de Fisiología de la Universidad de Freiburg (Suiza) tuvimos ocasión de comprobar el hecho observado hacía ya algún tiempo por el Dr. LASZT, incluso bastante antes de las citadas investigaciones de SCHRÖDER, de que el shock hipoglucémico debido a la inyección de insulina ofrecía, en general, caracteres mucho más graves en las ratas que habían recibido antes una sobrecarga de lactoflavina que en las normales; esta observación — no publicada hasta la fecha, que sepamos nosotros al menos — nos dió tema para el presente trabajo en el que se trata de conocer en ratas el efecto de la lactoflavina sobre la glucemia, tanto en animales normales como en los que se provoca la hipoglucemia por inyección de insulina.

PARTE EXPERIMENTAL

Material y métodos

Hemos utilizado ratas blancas, machos, de edad aproximada a los tres meses y con peso comprendido entre 80 y 110 gramos.

Los animales se mantenían en ayuno de 24 horas, antes de la prueba. Las muestras de sangre se extraían por sección de un pequeño trocito de cola. Para las determinaciones de glucemia se ha seguido en micrométodo de Hagedorn-Jensen, en sangre total.

Como preparados, se han empleado Lactoflavina (Alter) y la Insulina (Bayer).

El trabajo ha sido realizado en los laboratorios de Fisiología de la Facultad de Medicina de Barcelona.

Experiencias

I. — EFECTO DE LA LACTOFLAVINA SOBRE LA GLUCEMIA NORMAL.

En esta primera serie de ensayos hemos operado como sigue: previo ayuno de 24 horas se hacía una primera extrac-

ción de sangre; a continuación se inyectaban subcutáneas 350 γ de lactoflavina; los animales se dejaban durante media hora en unos casos o tres horas y media en otros, vigilándolos, después de cuyo tiempo se practicaba la segunda toma de sangre; otras veces hemos hecho en el mismo animal tres extracciones: la primera, inicial, la segunda a la media hora de inyectar la lactoflavina y la tercera tres horas después de esta última. Las determinaciones de glucemia se hacían en serie. Con otros animales se efectuaban a la vez las pruebas control, sin proporcionarles lactoflavina.

Los resultados obtenidos se han reunido en los cuadros I y II. En ellos se indica la glucemia en mg. % en el momento inicial, a la media hora de inyectar lactoflavina y a las tres horas y media de tal inyección. Las cifras entre paréntesis corresponden a las desviaciones referidas en tanto por ciento del respectivo valor inicial de glucemia, expresando si son aumentos (+) o disminuciones (—).

CUADRO I

Efecto de la lactoflavina sobre la glucemia

Rata N.º	Peso (g.)	Lactoflavina (γ)	Glucemia (mg. o/º)		
			Inicial	A la media hora	A las 3 horas y media
J	82	350	65	61 (— 6,15)	
5	94	350	81	74 (— 8,65)	
8	99	350	76	71 (— 6,6)	
9	91	350	69	63 (— 8,7)	
12	102	350	84		80 (— 4,75)
15	87	350	77		76 (— 1,3)
19	93	350	68		63 (— 7,35)
24	110	350	80		64 (— 20,0)
27	89	350	79	71 (— 10,1)	76 (— 3,8)
31	103	350	82	74 (— 9,75)	56 (— 31,7)
36	97	350	68	60 (— 13,3)	62 (— 8,8)
40	88	350	74	65 (— 12,15)	61 (— 17,6)
		MEDIA	75,2	67,3 (— 10,6)	67,2 (— 10,6)

CUADRO II
Glucemia en ratas normales

Rata N.º	Peso (g.)	Glucemia (mg. %)		
		Inicial	A la media hora	A las 3 horas y media
2	102	75	73 (- 2,67)	
6	95	78	80 (+ 2,56)	
10	80	73	72 (- 1,37)	
13	100	80		80 (0)
16	88	74		76 (+ 2,7)
20	103	69		68 (- 1,45)
32	108	76	75 (- 1,31)	76 (0)
37	80	83	82 (- 1,20)	81 (- 2,4)
41	94	77	76	78 (+ 1,3)
	MEDIA	76,1	76,3 (+ 0,26)	76,5 (+ 0,53)

El examen de los cuadros anteriores enseña que mientras en los animales controles apenas varía el contenido de glucosa en sangre en todo el tiempo de duración de la prueba, en los que reciben lactoflavina hay un descenso apreciable en los treinta primeros minutos que alcanza un promedio del 10,6 por 100 del normal, de manera muy constante; después de tres horas y media, unos animales se han recuperado casi totalmente (ratas 15 y 27) mientras que otros no, llegando en algún caso a caídas de glucemia del 20 y aun del 31,7 %; lo más general es que subsista la hipoglucemia. Expresiva resulta la gráfica de la fig. 1.

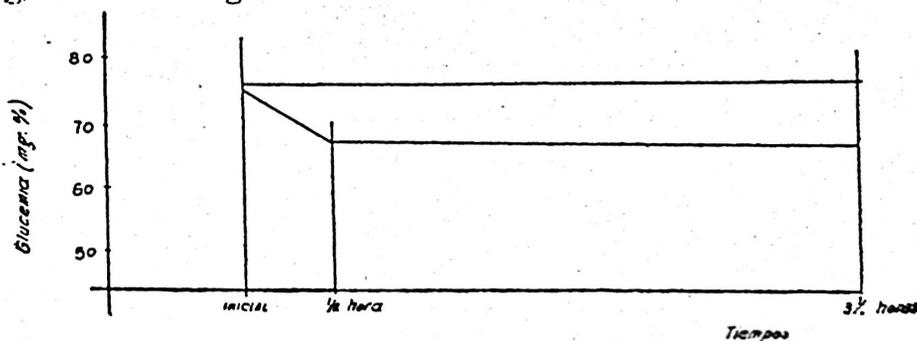


Fig. 1

2. — EFECTO DE LA LACTOFLAVINA SOBRE LA ACCIÓN HIPO-GLUCEMIANTE INSULÍNICA.

En esta segunda parte de las experiencias se empleaban también ratas en ayuno de 24 horas, de las que se tomaba primero una muestra de sangre y luego a un grupo de ellas se les inyectaba 350 γ de lactoflavina y otro se dejaba para control; a unas y otras se les inyectó a continuación insulina a dosis de 0,5 unidades internacionales por 100 gramos de peso corporal; las posteriores extracciones de sangre se realizaban a la media hora y a las tres horas y media de la inyección de insulina.

CUADRO III

Efecto hipoglucemiante insulínico en ratas normales

Rata N.º	Peso (g.)	Glucemia (mg. %)		
		Inicial	A la media hora	A las 3 horas y media
3	86	82	56 (— 31,85)	
7	108	75	50 (— 33,2)	
14	105	71	51 (— 29,1)	
18	85	80	59 (— 26,1)	
22	98	69		58 (— 27,3)
25	106	77		63 (— 18,2)
28	89	74		60 (— 18,9)
30	100	85		80 (— 6)
34	96	70	47 (— 32,9)	59 (— 16)
38	100	78	52 (— 33,2)	63 (— 19,4)
42	80	73	45 (— 38,2)	50 (— 31,3)
44	90	75	44 (— 41,5)	54 (— 28)
	MEDIA	75,7	50,5 (— 33,3)	60,9 (— 19,5)

CUADRO IV

Efecto hipoglucemiante insulínico en ratas que han recibido subcutáneamente 350 γ de lactoflavina

Rata N.º	Peso (g.)	Glucemia (mg. %)		
		Inicial	A la media hora	A las 3 horas y media
4	95	86	52 (— 39,6)	
11	88	69	39 (— 43,5)	
17	105	78	46 (— 41,0)	
21	85	81	43 (— 47,0)	
27	113	73		36 (— 50,6)
26	101	80		42 (— 46,5)
29	90	79		40 (— 50,6)
33	88	74		43 (— 41,9)
35	80	81	48 (— 40,7)	50 (— 38,3)
39	84	70	37 (— 47,0)	35 (— 50)
43	92	76	40 (— 47,4)	35 (— 54)
45	103	72	33 (— 54,2)	33 (— 52,9)
	MEDIA	76,4	42,2 (— 44,7)	39,4 (— 48,5)

Los cuadros anteriores, III y IV, muestran los resultados conseguidos. La hipoglucemia insulínica, con las dosis que hemos utilizado, alcanza a los treinta minutos descensos relativos del 26 al 41,5 % (promedio del 33,3 %) y se recupera ya algo a las tres horas y media en que el descenso en algún animal casi ha desaparecido (rata n.º 30) manteniéndose aún en otros, si bien en proporción francamente menor al de la glucemia de media hora después de la administración de insulina, ya que el promedio del descenso es de sólo un 19,5 % relativo a la glucemia media inicial. Comparando estos datos con los del cuadro IV, salta a la vista que por la lactoflavina se produce una hipoglucemia mucho más fuerte y duradera que la que encontramos normalmente con iguales dosis de insulina : con la sobrecarga de vitamina B₂, el descenso relativo a la media hora es del 39,6 al 54 % (!), con un promedio del 44,7 % es decir, más de un 10 % más fuerte ; a las tres horas y media, subsiste aproximadamente tal descenso que ahora es, por tér-

mino medio, del 48,5 %, cerca de un 30 % más que el que se presenta normalmente.

Con este hecho coincide la observación de que los animales que han recibido lactoflavina sufren durante más tiempo la acción del shock insulínico: mientras éstos siguen adinámicos a las tres horas y media de inyectar insulina, los que no han sido tratados con lactoflavina presentan al cabo de igual tiempo una actividad casi normal.

Los resultados aparecen bien manifiestos en el gráfico de la fig. 2.

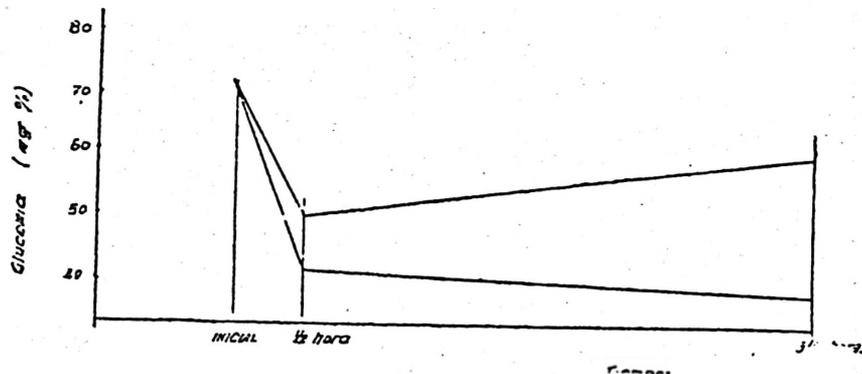


Fig. 2

3. — MORTALIDAD POR HIPOGLUCEMIA DE ORIGEN INSULÍNICO EN RATAS NORMALES Y TRATADAS CON LACTOFLAVINA.

Las ratas de las experiencias anteriores que habían sufrido el efecto insulínico recibieron durante tres días, a más de la alimentación ordinaria, 1 c. c. de solución 0,3 normal de glucosa en inyección subcutánea. Pasados 15 días se utilizaron todas para este último ensayo. De las 45 ratas empleadas en total, habían tomado lactoflavina 24; tras ayuno de 24 horas, se administró a éstas, otras 350 γ de lactoflavina y diez minutos después, se inyectaba una dosis de insulina de 1 unidad internacional por cada 100 gramos de peso corporal; la misma cantidad de hormona pancreática se les proporcionó a los 21 animales restantes. La fuerte caída de glucemia provocada ocasionó la muerte en once ratas de las del grupo que habían sufrido la sobrecarga de lactoflavina y seis de las otras no tratadas; la resistencia no era por otra parte muy uniforme, ya que mientras algunos animales presentaban muy marcados

los síntomas del shock, muriendo rápidamente, otros se afectaban mucho menos. De todos modos la mortalidad en el grupo que había sido inyectado previamente con lactoflavina fué, como fácilmente se deduce, del 44 %, mientras que en el que no fué tratado alcanzó sólo el 28,6 %.

Discusión

En las precedentes experiencias se comprueba que la lactoflavina de por sí es ya capaz de provocar en las ratas un descenso de la glucemia que en las condiciones de trabajo utilizadas alcanza alrededor de un 10 % del valor inicial después de treinta minutos; el resultado es menos uniforme a las tres horas y media, ya que en unos casos está recuperada casi totalmente la glucemia de partida, persistiendo en cambio en otros el descenso. La lactoflavina favorece así o la síntesis de glucógeno a partir de la glucosa de la sangre o el consumo oxidativo de esta última; de cualquier modo el resultado es que disminuye el contenido de glucosa en la sangre. -

Antes hemos dicho ya que en ratas sometidas a avitaminosis B, la adición de 100 γ de lactoflavina por vía subcutánea diariamente, llevaba consigo un aumento del glucógeno hepático mientras que permanecía constante el de los músculos cardíaco y esquelético (SCHRÖDER, 1937). También NISHIOKA (1937) trabajando igualmente en ratas encontró, haciendo determinaciones de glucógeno tres horas después de ingerir glucosa por vía oral, que si se había proporcionado lactoflavina en dosis de 0,12 cc. de solución concentrada por cada 100 gramos de peso corporal se aceleraba la formación de glucógeno en el hígado; dosis fuertes producen por el contrario el efecto opuesto. Las dosis que utilizamos en nuestras experiencias se encuentran comprendidas entre las que favorecerían la síntesis de glucógeno, lo que puede apoyar la hipótesis de que la hipoglucemia se deba a tal acción.

Por otra parte ha sido demostrada por varios autores la activación de las deshidrogenaciones de muchos productos del metabolismo intermediario glucídico (WAGNER-JAUREGG, RAUEN y MOLLER, 1934, WAGNER-JAUREGG y RAUEN, 1935, y otros) gracias a la lactoflavina; el fermento amarillo tiene influencia demostrada en los procesos de óxidoreducción de

numerosos sustratos, tales como la glucosa, exosa-difosfato, exosa-monofosfato, aldehídos glicérico y fosfoglicérico, fosfato glicérico, ácidos láctico, málico y cítrico, y el alcohol. Todo esto es suficiente para pensar en una activación de los procesos de glucolisis; el punto en que puede actuar la lactoflavina puede ser muy distinto y probablemente múltiple, consiguiendo el efecto hipoglucemiante por procedimientos muy diversos.

La influencia de la lactoflavina respecto a la acción de la insulina sobre la glucemia es bastante clara; se consiguen efectos más fuertes y duraderos. A la media hora de inyectar la insulina a los animales el descenso normal es del 33,3 % mientras que si recibían antes lactoflavina se rebasaba éste en más de un 10 %. La diferencia es mucho mayor cuando se trata de la glucemia a las tres horas y media; en este caso la de los animales sin lactoflavina está en vías de recuperación habiéndose reducido el descenso por término medio hasta un 19,5 %; con lactoflavina persiste la hipoglucemia cuya cuantía viene a ser aproximadamente igual a la de media hora después de la administración de insulina, alcanzando la caída un valor medio de 48,5 % del contenido en glucosa inicial. Hay casos en que después de las tres horas y media tal caída es incluso de más del 50 %, a pesar de lo cual no murió ningún animal.

Durante el shock insulínico observó SPITZBARTH (1940) que disminuía el glucógeno del hígado del conejillo de Indias y de la rata mientras que el muscular aumentaba; si los animales en cambio recibían durante diez días 250 γ de lactoflavina, si bien descende algo el glucógeno hepático y muscular, al provocarse ahora el shock continúa descendiendo el muscular, pero asciende el hepático. En un reciente trabajo nuestro (PONZ, 1943) hemos visto en ratas que la administración de insulina hace aumentar la eliminación ordinaria de lactoflavina tal como antes se había observado en el hombre (BEIGLBÖK y GRISSONI, 1940). Indudablemente que tiene que haber por todo esto una interesante relación entre la insulina y la lactoflavina en la acción mutua sobre el metabolismo de los glúcidos; es un aspecto más de las influencias recíprocas entre vitaminas y hormonas que en el caso presente, quizá como en ningún otro, abarca también a los procesos fermentativos, ya que puede darse como seguro que es al estado de fermentos amarillos como la lactoflavina ejerce su misión en este caso. La insulina es hipoglucemiante y también lo es la lactoflavina; la lactoflavi-

na además parece como si hipersensibilizara al organismo respecto del efecto insulínico. ¿Cómo ocurre esto? ¿Necesitan una de otra? La solución real no puede todavía darse. Estamos aún lejos de descubrir el modo de acción de la insulina, lo que es premisa necesaria y hasta tanto las hipótesis tendrían poco fundamento; hay que esperar a que sucesivas investigaciones vayan dando más luz a este asunto.

Queremos llamar la atención, sin embargo, sobre el hecho de que se encuentra una hipersensibilización a la insulina y tendencia a prolongar la hipoglucemia cuando se extirpa a los animales la glándula hipofisaria (COPE y MARKS, 1935). ¿Intervienen en todo esto las hormonas hipofisarias relacionadas con el crecimiento y el metabolismo glucídico? Algo de ello nos vimos obligados a pensar hace poco al investigar las relaciones de la hipófisis con la eliminación de lactoflavina (l. cit.).

Conclusiones

1. — La administración de dosis de 350 γ de lactoflavina en inyección subcutánea a ratas de tres meses de edad, provoca una hipoglucemia que alcanza a la media hora un descenso del 10 % próximamente del valor inicial. A las tres horas y media se mantiene en general tal caída, pero no uniformemente: en unas casi se ha normalizado mientras en otras está aun más acusada.

2. — Igual dosis de lactoflavina hace más fuerte la caída de glucemia provocada por administración de 0,5 unidades internacionales de insulina por 100 gramos de peso. Al mismo tiempo se hace mucho más duradero el efecto de la insulina. El descenso a la media hora es del 33 % en las ratas control, mientras que en las que han recibido lactoflavina es del 44,7 % por término medio; a las tres horas y media las caídas son respectivamente de 19,5 y 48,5 %.

3. — La mortalidad por inyección de insulina a dosis de 1 unidad internacional por 100 gramos de peso corporal es para el grupo que se ha tomado lactoflavina de un 4 %, mientras que para el de control sólo es del 28,6 %.

4. — La lactoflavina parece sensibilizar en intensidad y duración al organismo respecto a la acción hipoglucemiante de la insulina, sin que pueda concretarse aún cómo ocurre esto.

Resumen

Se investiga en ratas la acción de la lactoflavina sobre la glucemia normal y sobre la hipoglucemia insulínica.

La inyección subcutánea de 350 γ de lactoflavina provoca una ligera hipoglucemia que a la media hora es de un diez por ciento aproximadamente. A las tres horas y media ha desaparecido ya en unos casos, mientras que en otros está aún más acentuada.

La misma dosis intensifica la acción hipoglucemiante de la insulina, tanto en la cuantía relativa del descenso como en la duración.

La mortalidad provocada por inyección de una unidad internacional de insulina por cien partes de peso corporal es mayor en las ratas que han recibido previamente lactoflavina.

Summary

We investigate in rats the action of lactoflavine on normal glucemy and on insulinic hypoglucemy.

The subcutaneous injection of 350 γ of lactoflavine provokes a slight hypoglucemy amounting to approximately 10 % after half an hour. This phenomenon will, in some cases, have already disappeared after three and a half hours, whereas in others it will be even more pronounced.—

The same dose will intensify the hypoglucemifying action of insulin, both in the relative amount of the fall and in its duration. The mortality caused by the injection of one international unit of insulin per hundred parts of the weight of the body is greater in rats that have previously received lactoflavine.—

Zusammenfassung

Man untersucht bei Ratten die Wirkung des Laktoflavins auf die normale Glykämie und auf die Insulinhypoglykämie.

Die Subcutaninjektion von 350 γ Lactoflavin ruft eine leichte Hypoglykämie hervor, die im Laufe einer halben Stunde annähernd 10 % beträgt.

Nach 3 $\frac{1}{2}$ Stunden ist sie in einigen Fällen verschwunden, während sie in anderen noch stärker ist.

Die selbe Dosis steigert die Wirkung der Insulinhypoglykämie, sowohl in der relativen Quantität der Abnahme, wie auch in der Dauer der Wirkung.

Die Sterblichkeit, die durch eine Einspritzung von 1 IE Insulin pro 100 gr. Körpergewicht hervorgerufen wird, ist bei den Ratten, die vorher Laktoflavin bekommen haben grosser.

Bibliografía

- ALBRICH, E. y W. BEIGLBÖCK, Wien, Arch. inn. Med., 32, Gesellschaftsberichte, 1938.
- BEIGLBÖCK, W. y L. M. GRISONI, Wien. Arch. inn. Med., 34, 109-118, 1940.
- COPE y MARKS, J. *Physiol.* 83, 157, 1935.
- LEONE, A. y P. MURGIA. *Med. sper. Arch. ital.* 6, 321-332 (1940).
- NISHIOKA, S. *Ohaxama-Igakkai-Zaschi*, 49, 975-980, 1937.
- PONZ, F.-Trab. inv. biol. s. *Biología*, 1944, aún no publicado.
- SCHRÖDER, Z. *exper. Med.*, 101, 373-403, 1937.
- SPITZBARTH, H. *Wien. Klin. Wschr.* 1940, II, 1031-1035.
- WAGNER-JAUREGG, TH. y H. RAUEN, *Hoppe-Seylers Z.* 237, 233-235, 1935.
- WAGNER-JAUREGG, TH., H. RAUEN y E. F. MÖLLER. *Hoppe-Seylers Z.* 228, 273-276, 1934.