

Instituto de Fisiología de Barcelona
(Prof. Dr. J. Jiménez-Vargas)

Acción de la insulina en el hígado aislado de rata hambrienta

por J. JIMENEZ-VARGAS y J. LARRALDE

(Recibido para publicar el 20 de Noviembre de 1948)

INTRODUCCION

En un trabajo anterior (LARRALDE (10)) pudimos comprobar que la absorción intestinal de monosacáridos en la rata disminuye en proporción a la duración del ayuno previo. Como el déficit de la absorción corresponde a la caída de tolerancia de glucosa, observada por diversos autores (CHAMBERS (3) y WINTER (21)), creíamos que de alguna manera habrían de relacionarse estos dos efectos del hambre sobre el metabolismo hidrocarbonado. La disminución de tolerancia a la glucosa puede depender de un déficit de la respuesta pancreática a la hiperglucemia, o de una insuficiencia de la función glucogénica del hígado creada por la dieta previa pobre en hidratos de carbono. Como suponíamos que los mismos factores responsables de la disminución de tolerancia podían influir también en el retardo de absorción observado por nosotros en ratas hambrientas, esto nos sugirió investigar la capacidad funcional hepática en lo que se refiere al metabolismo hidrocarbonado, comparativamente en animales normales y hambrientos. Y como se trataba de precisar el papel del hígado, procurando la exclusión de todos los demás mecanismos reguladores, hemos creído que habríamos de hacer las experiencias en hígado aislado para poder valorar adecuadamente todos

los factores y sin reacciones secundarias del resto del organismo.

PARTE EXPERIMENTAL

con la colaboración de la señorita Rosa M.^a Bodí

La perfusión de hígado aislado de mamífero presenta considerables dificultades técnicas que, si no se resuelven adecuadamente, pueden invalidar los resultados. Por eso, después de unas experiencias de tanteo, nos hemos decidido a utilizar el método de TROWELL (20). Este método consiste en practicar la perfusión inyectando el líquido por la vena cava para que penetre en el hígado por las suprahepáticas. Tiene la ventaja de que se reduce a un mínimo el tiempo en que está interrumpida la circulación hepática y de que logra así un volumen circulante suficiente para garantizar la normalidad de aporte de oxígeno a la célula hepática durante la experiencia. Y esto es decisivo cuando se trata de investigar la glucólisis y glucogénesis, que, como es sabido, se influyen acusadamente por toda situación de anoxia.

En estos ensayos, de la curva de concentración de glucosa en el líquido de perfusión deducimos la marcha de la glucogénesis y glucogenolisis hepática. Teniendo en cuenta que el líquido siempre contiene una cierta proporción de sangre, para más seguridad del resultado determinamos la glucosa por el método de SOLS (1).

Cuando empleamos hígado de rata hambrienta sin administrar insulina y con glucosa al 1,5 por mil, aproximadamente, observamos que si el ayuno previo es de poca duración — de 24 horas o poco más —, la célula hepática fija glucosa y hay siempre disminución de su concentración en el líquido. El descenso es, sin embargo, poco manifiesto.

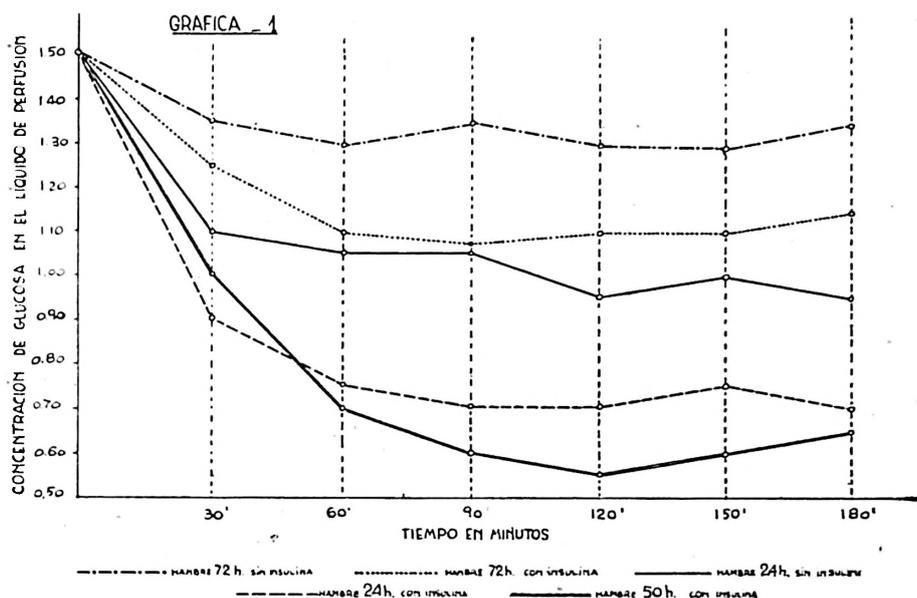
Después de un período de hambre prolongado — alrededor de 72 horas — la concentración de glucosa en el líquido apenas se modifica.

En los ensayos con insulina y en hambre de poca duración, encontramos que siempre disminuye de una manera apreciable la concentración de glucosa en el líquido. El descenso es más acusado cuanto más largo es el período de ayuno den-

(1) Modificación al método de Folin-cobre-colorimétrico, próximo a publicarse en esta Revista.

tro de ciertos límites, pero cuando se prolonga excesivamente, se hace menos marcado este efecto de la insulina. En las siguientes gráficas (fig. 1) representamos los valores medios de los resultados obtenidos.

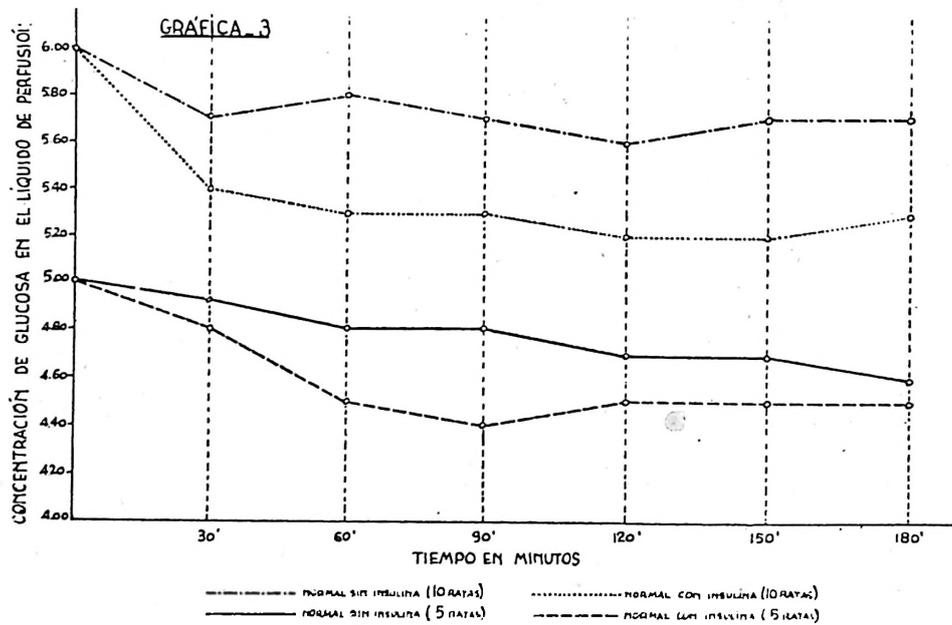
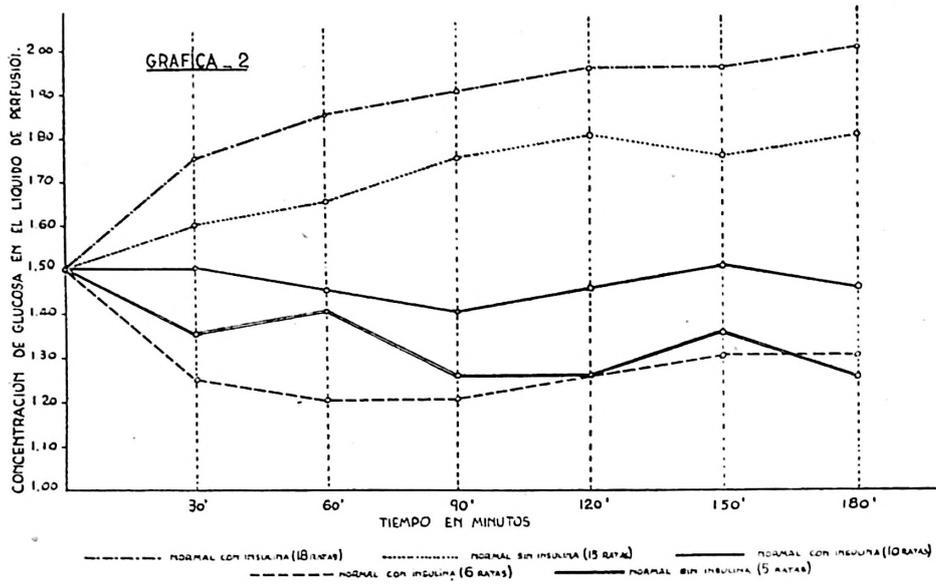
En experiencias de control en hígado de rata normal, con glucosa al 1,5 % y en ausencia de insulina, observamos siem-



pre aumento de la concentración de glucosa en el líquido (figura 2).

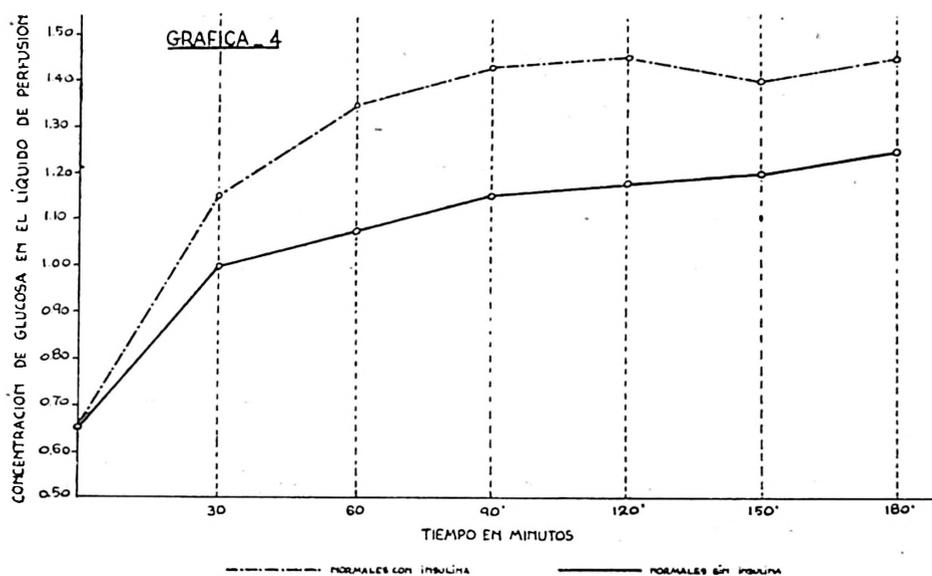
Cuando añadimos insulina en estas experiencias de control, observamos que en la mayoría de los casos aumenta también la concentración de glucosa en el líquido de perfusión y obtenemos valores medios que nos indican una glucogenolisis más intensa que en las experiencias del caso anterior. En algunas, disminuye la concentración de glucosa de una manera apreciable al principio aun cuando después vuelve a tener tendencia a aumentar. En otros casos, las oscilaciones de concentración son tan ligeras y tan variables que podemos considerar que no influye la insulina prácticamente nada, teniendo en cuenta los valores medios de este grupo.

Cuando la concentración de glucosa en el medio es muy superior a la normal hay pocas diferencias entre los ensayos



con insulina y sin insulina en hígado de rata normal (figura 3). Siempre en estos casos la concentración o prácticamente no varía o desciende, pero nunca aumenta; sin embargo, predomina ligeramente el descenso en presencia de insulina. A concentraciones subnormales siempre aumenta, y también sin grandes diferencias con insulina o sin ella (figura 4).

Si tenemos en cuenta que todo aumento de glucosa en el

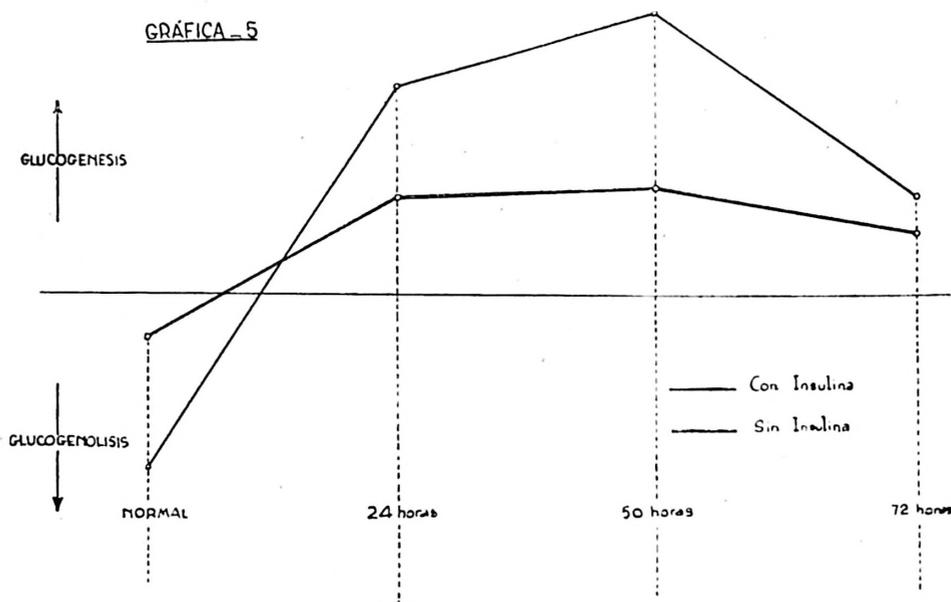


líquido equivale a glucólisis predominante, mientras que la caída de concentración significa que en el hígado las reacciones metabólicas se realizan sobre todo en el sentido de gluco-génesis, podemos esquematizar el conjunto de nuestros resultados en la siguiente gráfica (figura 5).

DISCUSION

Un hecho que se deduce a primera vista de la gráfica anterior es que el sentido en que se verifican las reacciones metabólicas hidrocarbonadas en la célula hepática depende de su contenido en glucógeno. Cuando el ayuno es de poca duración, la célula en las condiciones experimentales del hígado aislado, espontáneamente sintetiza glucógeno. Hemos de aceptar que entonces se conservan íntegros o por lo menos en buena situa-

ción funcional sus sistemas fermentativos. La insulina en estas condiciones siempre acentúa la glucogénesis. Y el hecho de que la acción de la insulina es más manifiesta cuando se prolonga, dentro de ciertos límites, el período de ayuno, puede interpretarse teniendo en cuenta su capacidad de activar reacciones de fosforilización (SOSKIN, LEVINE y HECHTER (16)



y KAPLAN y GREENBERG (9), STAEHLIN y VOEGTLI (19), LEVINE, FEINSTEIN y SOSKIN (11), STADIE (18).

Esto nos sugiere que en el hígado de estos animales habría un empobrecimiento enzimático, y por eso la acción activadora de la insulina es más manifiesta que en el hígado normal, porque la activación era más necesaria. En el hígado de rata en situación de ayuno muy prolongado hemos encontrado que la glucogénesis no tiene intensidad apreciable y que entonces la insulina vuelve a perder actividad glucogenética. Es que entonces, probablemente, ha llegado al máximo el déficit fermentativo, y es tal la insuficiencia de la acción catalítica que la insulina ya no es capaz de compensarla adecuadamente, y manifiesta por eso una activación claramente menos intensa.

Nuestras experiencias comprueban también que la acción de la insulina sobre el hígado normal está subordinada a su

contenido en glucógeno por una parte, y por otra al nivel de la glucemia. Por eso, acelera la glucolisis, porque hay que suponer que la mayoría de las ratas normales tienen suficiente cubierta la reserva de glucógeno hepático. Y por eso, son pocos los casos en que observamos aumento de glucogénesis por la insulina. Que — suponiendo normal el contenido del glucógeno — el sentido de las reacciones se encuentra en cierto modo subordinado al nivel de la glucemia, lo confirma el resultado de las experiencias con concentraciones muy fuertes o subnormales de glucosa en el líquido de perfusión.

En animales normales, la insulina disminuye el glucógeno hepático (BODO y NEUWIRTH (1), CORI (5) y CORKILL (6), REID (13), hecho que, según BRIDGE (2), es indudablemente, en buena parte, efecto propio de la insulina y no secundario a influencias de contrarregulación. También «in vitro» se ha llegado a las mismas conclusiones, aunque con resultados un tanto contradictorios (ISSEKUTZ y SZENDE (8), CORI, CORI y BUCHWALD (4), MOLITOR y POLLAK (12) y SAHYUN y LUCK (14), SOSKIN y colaboradores (17) (15), en investigaciones muy convincentes, demuestran que si la insulina inhibe la glucogenolisis hepática, es sobre todo porque refuerza el efecto inhibitor del aumento de concentración de glucosa en el líquido de perfusión y, por este hecho, podemos aceptar que el nivel de la glucosa en el medio pericelular es el factor determinante de la intensidad y dirección de las reacciones metabólicas y que la insulina no hace más que acelerar su efecto.

El tipo de experiencias efectuadas por nosotros, que tienen la ventaja de excluir el factor pancreático, nos permite llegar a conclusiones sobre el papel de la célula hepática en la disminución de la tolerancia a la glucosa determinada por el hambre. Y así podemos admitir que, aun cuando la capacidad glucogenética propia de la célula hepática pueda estar disminuída, se conserva en cambio, dentro de ciertos límites de hambre, su sensibilidad a la insulina. Por otra parte, supuesto que en el animal intacto el hambre va acompañado de una menor reactividad insular al aumento de la glucemia, la función glucogenética del hígado se deprime, a pesar de tener disminuído el depósito de glucógeno. Pero la capacidad glucogenética desciende al máximo, y disminuye también la sensibilidad a la insulina, cuando el hambre se prolonga excesivamente. Por

todo esto, hay que contar con la insuficiencia de la glucogénesis, como un factor a tener en cuenta cuando se trata de interpretar el descenso de tolerancia a la glucosa desencadenado por el hambre o una dieta pobre en hidratos de carbono.

CONCLUSIONES

En el hígado aislado de rata hambrienta, la glucogénesis es normal cuando el ayuno es de poca duración; la acción de la insulina entonces se caracteriza por una intensificación de la glucogénesis. Después de un período de hambre prolongado, se observa insuficiencia de la glucogénesis. La insulina puede compensar este déficit marcadamente cuando el período de ayuno no pasa de unas 50 horas, pero cuando su duración es de 70 horas o más, la acción compensadora de la insulina se hace mucho menor y apenas hay diferencia entre las observaciones con insulina y sin insulina.

La insuficiencia de la glucogénesis hepática parece ser un factor a tener en cuenta en la interpretación del descenso de tolerancia a la glucosa producido por el hambre o la dieta pobre en hidratos de carbono.

Resumen

Se realiza un estudio experimental en hígado aislado de ratas hambrientas y ratas normales como control. La glucogénesis es normal cuando el ayuno no pasa de 24 horas. En estas condiciones hay una tendencia espontánea a la glucogénesis que es más acusada en presencia de insulina. Cuando el período de hambre es prolongado, al principio disminuye la intensidad de la glucogénesis espontánea, pero aumenta claramente en presencia de insulina. Cuando el hambre dura 72 horas o más, la insuficiencia de la glucogénesis se acentúa y la acción compensadora de la insulina se hace menor, de tal manera, que apenas hay diferencias entre las observaciones con insulina y sin insulina.

En el hígado de rata normal, en las experiencias de control, se observa un predominio de la glucólisis en ausencia de insulina que se acentúa en presencia de insulina. Este resultado es más manifiesto cuando la concentración de glucosa en el líquido de perfusión es subnormal, mientras que a concentraciones muy superiores a lo normal apenas se diferencian las experiencias con insulina y sin insulina.

Los autores consideran que sus resultados vienen a comprobar

que las interpretaciones de SOSKIN y colaboradores sobre la acción fisiológica de la insulina.

Summary

A study of the isolated livers in starving and normal rats as a control has been realized. It has been observed that glycogenesis is normal when the fast does not exceed 24 hours. When the period of fasting is prolonged, the intensity of spontaneous glycogenesis diminishes at first, but increases in the presence of insuline. When starvation lasts 72 hours and longer, the insufficiency of glycogenesis is accentuated and the compensating action of insuline becomes less, in such a way that there is hardly any difference in the observations with insuline and without it.

In control experiments, a predominance of glycolysis in the absence of insuline, is observed in the liver of a normal rat. In the presence of insuline, glycolysis is accentuated. This result is more marked when the concentration of glucose in the perfusion liquid is subnormal, whilst in concentrations very superior to the normal, there is hardly any difference in the experiences with insuline or without it..

The authors considerer that the results bear out the interpretations of SOSKIN and his collaborators regarding the physiological action of insuline.

Bibliografía

1. BODO, R. C. y NEUWIRTH, I., *Am. J. Physiol.* 103, 5 (1933).
2. BRIDGE, E. M., *Bull., Johns Hopkins Hosp.* 62, 408 (1938).
3. CHAMBERS, W. O., *Physiol. Rev.* 18, 248 (1938).
4. CORI, G. T., CORI, C. F., y BUCHWALD, K. W., *J. Biol. Chem.* 86, 375 (1930).
5. CORI, C. F., *J. Pharmacol. exper. Therap.* 25, 1 (1925).
6. CORKILL, A. B., *Biochem. J.* 24, 779 (1930).
7. HALTEN, C., *Acta med. Skand.* 71, 285 (1929).
8. ISSEKUTO, B. y SZENDE, J., *Biochem. Ztschr.* 272, 412 (1934).
9. KAPLAN, N. O. y GREENBERG, D. M., *Am. J. Physiol.* 140, 598 (1944).
10. LARRALDE, J., *R. esp. Fisiol.* 3, 31 (1947).
11. LEVINE, R., FEINSTEIN, R. y SOSKIN, S., *Federation Proc.* 1, número 1,50 (1942).
12. MOLITOR, M. y POLLAK, L., *Arch. f. exper. Path. u Pharmacol.* 154, 280 (1930).
13. REID, C., *J. Physiol.* 106, 26 P. (1947).
14. SAHYUN, M. y LUCK, J. M., *J. Biol. Chem.* 85, 1 (1929).
15. SOSKIN, S. y LEVINE, R. *Am. J. Physiol.* 120, 761 (1937). 129, 782 (1940).
16. SOSKIN, G., LEVINE, R. y HECHTER, o., *Am. J. Physiol.* 134, 40 (1941).

17. SOSKIN, S., LEVINE, R., y TAUBENHAUS, M., Proc. Soc. Exper. Biol. med., 42, 689 (1939).
18. STADE, W. C. ; YALE, J. Biol. Med. 16, 539 (1944).
19. STAEHELIN, D. y VOEGTLI, W. Nature 160, 363 (1947).
20. TROWELL, O. A., J. Physiol., 100, 432 (1942).
21. WINTER, H. A., Am. J. Physiol. 147, 228 (1946).