

## ACCION DEL ALOXANO SOBRE LA GLUCOGENOLISIS HEPATICA POR ADRENALINA (\*)

B. A. HOUSSAY y R. GERSCHMAN

(Instituto de Biología y Medicina Experimental, Costa Rica 4185, Bs. Aires)

Durante la perfusión del hígado del sapo *Bufo arenarum* Hensel se produce una liberación de glucosa, que es aumentada considerablemente por agregado de adrenalina (4). En el presente trabajo se estudió la acción del aloxano sobre la producción espontánea de glucosa y su aumento por la adrenalina.

TÉCNICA. — El líquido de Ringer, puesto en un frasco de Mariotte, se hacía llegar al hígado por la vena abdominal; el líquido que salía del órgano se recogía por una cánula colocada en el seno venoso. La irrigación restante del hígado quedaba excluida por ligaduras del pedículo hepático y de la vena cava inferior. El Ringer empleado contenía en g/100 cm<sup>3</sup>: ClNa, 0,65; ClK, 0,01; Cl<sub>2</sub>Ca, 0,02; CO<sub>3</sub>H Na, 0,02; PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>Na, 0,005.

La velocidad de perfusión se regulaba de modo de recoger 20 - 25 cm<sup>3</sup> de líquido eferente durante una hora, tiempo que duraba la recolección de cada muestra. Se valoró la glucosa por el método de Hagedorn - Jensen. Los resultados se expresan en glucosa producida en mg/100 g hígado/minuto.

### RESULTADOS

Al 1:1000 el aloxano disminuyó la glucogenólisis espontánea y suprimió la provocada por la adrenalina y la noradrenalina, pues

---

(\*) Presentado a la Sociedad Argentina de Biología, el 10 de abril de 1947.

siguió descendiendo a pesar de la presencia de estas sustancias (tabla 1).

Al 1:4500 y 1:6666 y 1:10000 se manifestó ya la acción glucogenolítica de la adrenalina, que fué más intensa con la dilución al 1:10000 (tabla 1).

TABLA 1

*Glucosa producida, mg/100 g hígado/minuto y desviación cuadrática media  
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión.*

Nº de experimentos	1 Ringer	2 Aloxano (concentración)	3 Aloxano más adrenalina 1:500.000	Valor de la diferencia entre 2 y 3 (1)
5	5.09 ± 2.13	(1:1000) 2.61 ± 0.75	1.00 ± 0.50	4.3
4	3.54	(1:3000) 4.59 ± 1.32	3.85 ± 0.78	0.9
6	—	(1:4500) 3.53 ± 1.62	6.08 ± 1.55	2.8
4	4.56 ± 1.78	(1:6666) 4.85 ± 0.92	6.69 ± 2.06	1.6
6	5.24	(1:10000) 5.79 ± 1.52	10.06 ± 2.04	4.2
27	4.24 ± 2.21	—	adrenalina 9.69 ± 1.27	6.2
6	3.22 ± 1.58	(1:1000) 2.74 ± 1.26	aloxano más Noradrenalina 1:500.000 1.46 ± 0.49	1.6
4	1.94 ± 0.59	—	Noradrenalina 5.41 ± 2.65	2.8

(1) Según la fórmula  $\sqrt{\frac{m^1 - m^2}{(\epsilon_1)^2 + (\epsilon_2)^2}}$  siendo  $m_1$  y  $m_2$  las medidas durante el aloxano y durante el aloxano y adrenalina.  $\epsilon$  es el error standard calculado según la fórmula  $\epsilon = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n(n-1)}}$

El lavado del hígado con Ringer durante 1 ó 2 horas, después del aloxano al 1:1000, no restituyó la acción glucogenolítica de la adrenalina. Pocas veces pareció restituir débilmente la acción suprimida por el aloxano al 1:3000 (tabla 2), pero esta restitución no resultó estadísticamente significativa con el número de experimentos realizados.

El aumento de glucosa producida por acción de la adrenalina, desapareció al agregar aloxano al 1:1000; más aún, la producción de glucosa descendió por debajo del valor normal anterior al tratamiento por adrenalina (tabla 3).

TABLA 2

*Glucosa producida, mg/100 g hígado/minuto  
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión*

Nº de experimentos	Aloxano (concentración)	RINGER		Adrenalina 1:500.000
		Horas de lavado		
6	(1:1000) 0.88	(1)	0.78	1.06
5	(1:1000) 4.12	(2)	2.54	2.17
8	(1:3000) 2.67	(1)	2.93	3.77

TABLA 3

*Glucosa producida, mg/100 g hígado/minuto  
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión*

Nº de experimentos	Ringer	Adrenalina 1:500.000	Adrenalina 1:500.000 Aloxano 1:1000
6	5.72	11.04	2.03

Después del aloxano al 1:1000 la perfusión con cisteína 0.01 no restituyó al hígado la capacidad de responder con un aumento de glucogenolisis cuando se perfunde luego con adrenalina. Después de la acción del aloxano al 1:1000 tampoco fué posible hacer reaparecer la respuesta glucogenolítica a la adrenalina por tratamiento con glutathion o insulina. Después del aloxano al 1:3000 pareció que la cisteína había producido una ligera recu-

TABLA 4

*Glucosa producida, mg/100 g hígado/minuto  
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión*

Nº experi- mentos	ALOXANO		Cisteina 0.01 M 1.21:1000	Adrenalina 1:500.000
	Concentra- ción	Glucosa liberada		
6	1:1000	1.22	0.83	0.56
7	1:3000	2.58	2.41	4.86
			<i>Glutation</i> 1:666	
6	1:3000	1.93	2.17	1.66
			<i>Insulina</i>	
6	1:3000	2.39	400 u/l - 4.06	4.64
5	1:3000	4.98	1100 u/l - 3.60	3.87
			<i>Ringer</i>	
8	0	2.67	2.93	3.77

TABLA 5

*Perfusión de hígados de sapo inyectados por vía endovenosa con aloxano  
(200 mg/kg)  
Cada cifra corresponde a una hora de perfusión*

Nº de ex- perimen- tos	Horas después de aloxano	GLUCEMIA DEL SAPO		GLUCOSA PRODUCIDA EN LA PERFUSION MG/100 g HIGADO/MINUTO		
		Inicial	Final	Ringer	Adrena- lina 1:500.000	Adrena- lina + aloxano 1:1000
6	5	0.51	0.96	4.64	6.75	—
6	24	—	0.58	6.37	14.0	3.28

peración de la sensibilidad a la adrenalina, pero ese aumento no resulta significativo desde el punto de vista estadístico.

Se inyectó aloxano por vía endovenosa (200 mg/kg peso) a sapos que se sacrificaron 5 a 24 horas después. En ese momento se perfundieron sus hígados con Ringer. En esos hígados la adrenalina produjo su acción glucogenolítica, aunque poco intensa en los hígados de las 5 horas. En un caso se agregó luego aloxano a la adrenalina, observándose que produjo la inhibición habitual del efecto glucogenolítico de la adrenalina (tabla 5).

### DISCUSIÓN

La reacción de la adrenalina con el reactivo de Folin no se modificó agregándole aloxano al 1:1000. La solución de ambas sustancias quedó incolora al día siguiente, mientras que la de adrenalina sola se había enrojecido.

La supresión de la glucogenólisis espontánea y sobre todo la de la acción glucogenolítica de la adrenalina parecen indicar una alteración de los sistemas enzimáticos que rigen el proceso de la glucogenólisis. La conocida acción del aloxano sobre los SH de numerosas enzimas podría ser la causa de esta inhibición (1, 3, 5, 6). Por eso se realizaron tentativas, que resultaron infructuosas, de restituir la glucogenólisis suprimida por el aloxano por medio de tratamientos con cisteína, glutatión o insulina.

Es interesante notar que el aloxano es capaz de suprimir la poderosa acción glucogenolítica de la adrenalina, pero no suprime totalmente la glucogenólisis espontánea, aunque ésta se vuelva menos intensa.

Durante la perfusión con aloxano al 1:1000 se observan algunas alteraciones del hígado. Estas son: a) de su superficie mana un poco de líquido (¿alteración de los capilares?); b) aparecen manchas blanquecinas (¿edema?); c) en varios casos el líquido de perfusión que sale del hígado se vuelve opalescente y contiene proteína y glucógeno. Las alteraciones hepáticas son menores con aloxano al 1:3000 y no aparecen con diluciones altas, como ser 1:10000.

La falta de alteración de la glucogenólisis adrenalínica, en hígados de sapos inyectados con aloxano, se parece a la falta

de modificación de la glucogenólisis espontánea observada en cortes de hígados de ratas inyectadas con aloxano (2).

### CONCLUSIONES

En el hígado perfundido de sapo:

1º) El aloxano al 1:1000 y 1:3000 disminuyó la glucogenólisis espontánea e impidió que la adrenalina y noradrenalina produzcan glucogenólisis.

2º) La acción glucogenolítica de la adrenalina, ya producida, es suprimida por el aloxano.

3º) La acción inhibitoria del aloxano sobre la glucogenólisis adrenalínica no pudo ser suprimida por la insulina, glutathion o cisteína.

### BIBLIOGRAFIA

1. Barrón E. S. G., Singer T. P.: J. Biol. Chem., 1945, 157, 221. —
2. Canzanelli A., Guild R., Rapport D.: Science, 1946, 104, 223. —
3. Hopkins F. G., Morgan E. J., Lutwak - Mann C.: Biochem J., 1938, 32, 1829. —
4. Houssay B. A., Gerschman R.: Rev. Soc. argent. Biol., 1947 (en prensa). —
5. Labes R., Freisburger H.: Arch. Exper. Path. Pharm., 1930, 156, 226. —
6. Lehmann H.: Biochem. J., 1939, 33, 1241.

