

Tesis de Posgrado

Experiencias realizadas con insulina libre de glucagón y con glucagón libre de insulina

Pierangeli, Héctor Raúl

1961

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias
Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Pierangeli, Héctor Raúl. (1961). Experiencias realizadas con insulina libre de glucagón y con glucagón libre de insulina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1101_Pierangeli.pdf

Cita tipo Chicago:

Pierangeli, Héctor Raúl. "Experiencias realizadas con insulina libre de glucagón y con glucagón libre de insulina". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1961. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1101_Pierangeli.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

**EXPERIENCIAS REALIZADAS CON INSULINA LIBRE DE GLUCAGON Y
CON GLUCAGON LIBRE DE INSULINA**

NECTOR RAUL PIERANGELI

**Resumen de tesis presentado para optar al
Título de Doctor en Química**

1961

R. de Tesis! 1101

El glucagon fue descubierto por Kimball y Murlin en 1923, quienes habían observado la acción hiperglucemiante de los extractos pancreáticos tratados con acetona. Casi al mismo tiempo se notó que ciertas insulinas al ser inyectadas por vía endovenosa producían una ligera y transitoria hiperglucemia como fase previa a su acción hipoglucemiante.

Las observaciones experimentales indican que el glucagon se forma en las células alfa de los islotes de Langerhans y que a su acción hiperglucemiante se agrega la de producir gluconeólisis en el hígado. La actividad gluconeolítica de las distintas partes del páncreas es variable según sea la distribución de las células alfa; se ha demostrado que la concentración de estas, es unas 10 veces mayor en la cola que en la cabeza y que la parte del cuerpo tiene una cantidad intermedia entre ambas.

La actividad gluconeolítica se ha encontrado en otras células que se hallan en la mucosa gástrica del perro y del conejo y que poseen las mismas características tincionales que las alfa de los islotes, aún cuando hasta el presente no se ha podido aislar de ellas el glucagon.

El glucagon se obtiene utilizando como materia prima una fracción amorfa proveniente de la purificación comercial de la insulina, por repetidas precipitaciones y redisoluciones con acetona diluida en un buffer de pH controlado.

El glucagon cristalizado, es un polipéptido cuyo peso molecular calculado en base a su contenido en azu-

fre es de 3482. Cualitativamente es semejante a la insulina en su contenido en aminoácidos; se diferencia en que contiene metionina y triptofano pero carece de cistina, isoleucina y prolina. Se ha demostrado, por una técnica semejante a la utilizada por Sanger para la insulina, que la molécula está constituida por 15 aminoácidos distintos, formando una cadena lineal de 27 aminoácidos y se ha podido establecer su fórmula estructural.

Pruebas de la unión peptídica y de la presencia de aminoácidos con núcleos benzénico, furfólico, etc. en su molécula, la ofrecen las reacciones positivas del biuret, Millon, Sakaguchi, Felin-Ciocalteu, la del 1-2-nitrosocraftol, etc..

Los cristales del glucagon son insolubles en agua fría, solubles aún en presencia de electrolitos en un medio de pH superior a 10. Insoluble aún en presencia de sales en una zona de pH que oscila entre 4 y 10, y a pH inferior a 4 se forman fibrillas insolubles.

El glucagon se hidroliza por las enzimas proteolíticas y en especial por la tripsina, pero a diferencia de la insulina, la hidrólisis se inhibe si previamente se ha incubado con cistina.

Su naturaleza hormonal ha provocado amplias discusiones, no obstante ello la evidencia actual parecería indicar que el glucagon es una hormona segregada por el páncreas, en respuesta a la hipoglucemia o a la estimulación por la hormona de crecimiento, que actúa provocando la degradación del glucógeno almacenado.

El mecanismo de su acción glucogenolítica parece residir en la activación de sistemas enzimáticos en la etapa de fosforilación de la glucosa en el hígado. A diferencia de la adrenalina no estimula la actividad de la fosforilasa en el músculo, y su acción sobre el glucógeno hepático no es bloqueada por la ergotamina.

Aún cuando por su acción sobre la célula hepática produce hiperglucemia, el glucagón es un antagonista de la insulina por su efecto pero no por su mecanismo de acción. Se ha demostrado que no inhibe la utilización periférica de la glucosa, sino que por el contrario la aumenta. Se supone entonces que no es una hormona antagonista de la insulina, sino que tendría una acción sinérgica liberando la glucosa hepática para su utilización periférica. La hiperglucemia alimentaria provocaría una descarga simultánea de glucagón e insulina, el primero se encargaría de movilizar el glucógeno hepático favoreciendo su utilización periférica, disminuyendo al mismo tiempo las reservas del mismo para que de esta manera se pueda almacenar, por acción de la insulina, nuevas cantidades de glucosa proveniente de los alimentos.

Como efecto secundario, se ha demostrado que el glucagón inhibe la síntesis de los ácidos grasos y del colesterol en el tejido hepático, estimula la actividad adrenocortical y detiene las contracciones de la musculatura gástrica provocadas por el hambre.

Aumenta la excreción renal de nitrógeno, sodio, potasio, cloro, fósforo y yodo radioactivo. En lo que respecta a los electrolitos, el aumento de su excreción sería de-

bido a una acción directa sobre el túbulo renal.

El glucagon parece no ser el agente causal de la diabetes mellitus, pero su presencia está relacionada con su labilidad.

Cuando se estudia la fisiopatología del metabolismo glúcido por medio de la "prueba de tolerancia a la insulina" y se emplea la insulina común, se observa una primera fase hiperglucémica de intensidad variable y que depende de la cantidad de glucagon presente en la muestra. Utilizando insulina libre de glucagon no se observa la fase hiperglucémica inicial, y muestra experiencia efectuada sobre 47 personas utilizando una dosis fija de 3 unidades por vía endovenosa y extrayendo sangre en ayunas, a los 5, 15, 30, 45, y 60 minutos y determinando en cada una de las muestras la "glucosa verdadera", nos permite puntualizar las siguientes observaciones:

- a) en todos los casos hubo descenso inmediato de la glucemia.
- b) en los sujetos considerados como normales, el descenso máximo de la glucemia se observa a los 15 - 30 minutos y la recuperación ocurre alrededor de los 60 minutos.
- c) en algunos diabéticos la respuesta es similar a los normales.
- d) en otros pacientes no diabéticos y en los casos de diabéticas embarazadas, la fase hipoglucémica es análoga a las anteriores, pero presentan una prolongación en la fase de la recuperación.
- e) en otros enfermos con supuesta ausencia de insulina endógena, la administración endovenosa de 3 unidades de in-

sulina libre de glucagon produce un marcado efecto hipoglucemiante y una recuperación muy lenta.

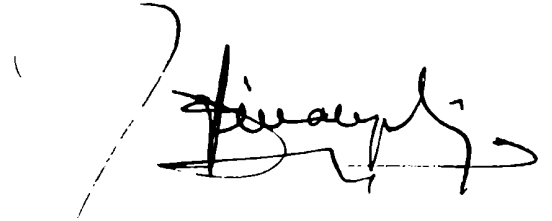
- f) en algunos casos hemos podido observar, en sanos y en enfermos, una marcada e inexplicable reacción hipoglucemiante tardía.
- g) existen sujetos sanos o enfermos muy poco sensibles a la insulina libre de glucagon en las dosis empleadas.

El estudio de la acción del glucagon lo hemos efectuado por inyección endovenosa de 20 unidades gato por kilogramo de peso en personas sanas y en diabéticos, utilizando una droga de actividad biológica determinada y extrayendo sangre en ayunas, a los 10, 20, 30, 60, 90 y 120 minutos para determinar en ellas "glucosa verdadera". La unidad gato es la cantidad de glucagon que administrada por vía endovenosa produce en gatos normales y anestesiados, a los 10-15 minutos de la inyección, un aumento de la glucemia de 30 mg por 100 ml de sangre sobre el valor en ayunas.

Los resultados experimentales obtenidos, nos permiten efectuar las siguientes consideraciones:

- a) La curva representativa de los valores de la glucemia obtenidos como respuesta a la inyección endovenosa de glucagon se caracteriza por dos ramas: la primera ascendente y la segunda descendente hasta alcanzar aproximadamente el valor inicial.
- b) En las personas sanas la elevación de la glucemia es de un 65 - 80 % a los 30 minutos y la recuperación ocurre entre los 60 y 120 minutos de la inyección.
- c) En ciertos diabéticos se produce una elevación algo superior al 30 % en los primeros minutos, siendo la recuperación gradual y tardía (más de 2 horas).

d) En otros diabéticos se observa una escasa respuesta hiperglucemiante y una rápida recuperación (menos de 60 minutos).

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Figueroa', written in a cursive style. The signature is located to the right of the typed text.

**EXPERIENCIAS REALIZADAS CON INSULINA LIGADA DE GLUCAGON Y
CON GLUCAGON LIGADO DE INSULINA**

RODOLFO RAUL VERRASQUELI

**Tesis presentada para optar al
Título de Doctor en Química**

—•—

TESIS 1101

Año 1961

"C. W. A."

Agradecemos también al Prof. Dr. GREGORIO WAINMAN SCH., Jefe del Departamento de Laboratorios del Instituto Nacional de la Nutrición, por su constante ayuda y por habernos brindado las facilidades y elementos materiales del Laboratorio de Análisis Biológicos de dicha institución, para poder realizar este estudio.-

Historia del glucagon: factor hiperglucémico-glucogénolítico del páncreas. Hiperglucemia provocada por la insulina. Pruebas que demuestran su existencia y el lugar de formación. Bibliografía.

El páncreas fue considerado desde el principio, como un órgano de gran importancia en la etiología de la diabetes mellitus. Ya en 1890, Von Mering y Minowski (58) observaron que los perros pancreatoprivos, presentaban síntomas muy similares a los observados en pacientes con dicha enfermedad. Las investigaciones posteriores confirmaron estos hechos y se llegó a emitir una teoría por la cual el páncreas era el responsable de la elaboración de una sustancia que "controlaba" la velocidad del metabolismo de los hidratos de carbono.

En 1869 Langerhans (34) describió los grupos celulares del páncreas que comenzaron a conocerse como "isletos de Langerhans".

Aunque desde 1899 (22) se sabe que en los isletos de Langerhans hay más de un tipo de células, la primera comunicación que distingue adecuadamente los diversos tipos, data de los trabajos de Lane en 1907 (33) quien observó que algunas de las células de los isletos pancreáticos de cobaya contenían granulaciones que eran fácilmente solubles en alcohol, mientras que las contenidas en otras células eran insolubles. Llamó a estas últimas "células alfa"

y a las primeras "células beta".

Posteriormente fueron descritos esos mismos tipos de células en el páncreas humano y en 1931 se agregó un tercer tipo llamado "células D" (5). Las células beta son las más numerosas, representan el 60-90 % del total, las células D, se encuentran en un 2-8 % y el resto son células alfa.

En el cobaya ha sido descrito un cuarto tipo de células: las "C", pero aún no fueron halladas en el páncreas humano.

Como veremos luego, las células alfa producirían glucagón y las beta la insulina, no habiéndose establecido aún la función de las células "D".

La noción de que el páncreas está vinculado a la etiología de la diabetes mellitus, movió a los investigadores a preparar y ensayar una serie de extractos pancreáticos, con el objeto de observar sus efectos sobre el metabolismo de los glúcidos. Y con tal fin se inyectaron a perros pancreatoprivos, pero los resultados obtenidos fueron poco concluyentes.

Luego de numerosas caídas, Banting y Best, en el año 1921 (3) prepararon un extracto pancreático que disminuía e inhibía completamente la glicemia en los perros pancreatocetomizados y que, sobre todo, era eficaz en el tratamiento de la diabetes mellitus en el hombre. El descubrimiento de la insulina marca en la historia de la medicina, la iniciación de una de sus etapas más gloriosas.

· Dos años más tarde, Kimball y Murlin (32), estudiando los extractos pancreáticos preparados en las condiciones descritas por Harting y Best, observan que al precipitar los extractos con acetona, obtenían un producto que al ser inyectado a perros normales, causaba una marcada hiperglucemia. Esta nueva sustancia, que no era evidentemente la insulina, fue designada por dichos investigadores con el nombre de glucagon.

Entre los años 1926 y 1930 se puso de manifiesto, en varias laboratorios norteamericanos, el hecho de que cuando la insulina comercial era administrada por vía endovenosa, se obtenía una ligera y transitoria hiperglucemia, antes de que comenzase la esperada y característica acción hipoglucémica. Este problema fue estudiado en particular por Mergor y Kramer entre los años 1929 y 1930 (9) (10) (11), quienes demostraron un efecto glucogenolítico sobre el hígado de los animales en los que se inyectaban las preparaciones de insulina.

Se pensó entonces que la insulina era la responsable de este efecto y a pesar de los hallazgos de Kimball y Murlin, se enunció una hipótesis, la primera entre muchas, para explicar cómo la insulina podía estimular la formación del glucógeno en los diabéticos y el descenso del mismo en los animales normales.

Abel (1) en 1930 consigue cristalizar la insulina; y en ese mismo año Gelling y de Louvier primero (30) y luego Mergor y Kramer (12), demostraron que la administración endovenosa de la insulina cristalizada ya produce el

efecto hiperglucémico inicial antes mencionado, y atribuyen esa acción de los preparados amorfos comerciales existentes hasta entonces, a una "impureza" que aparecía en el licor madre de cristalización.

En los años siguientes, quedó un poco en el olvido esta acción hiperglucémica inicial, debido a que la insulina cristalizada fue la fuente principal de las investigaciones. Solamente Bürger y colab. (8) siguieron en Alemania el estudio de este factor hiperglucémico, siendo ellos los primeros que intentaron su purificación y describieron muchas de sus propiedades.

El interés general se renovó en 1934 cuando Scott (4) describió un nuevo método de cristalización de la insulina que era ventajoso para la producción comercial y que fue adoptado por la mayoría de los fabricantes de insulina. Con la introducción de estas insulinas preparadas según Scott comenzaron a observarse nuevamente los efectos hiperglucémicos aún con insulinas que habían sido cristalizadas varias veces.

Se retomaron entonces por diferentes caminos las investigaciones sobre las causas de este fenómeno. - Bridge (6) y Evans (23) trabajaron con animales a los que inyectaron insulina obtenida por diferentes procedimientos; otros como Shipley y Humel (44) lo hicieron "in vitro", sobre cortes aislados de hígado, reavivándose por entonces la hipótesis de que, en ciertas condiciones, la insulina podría provocar el éxodo del glucógeno hepático. No todos los investigadores estaban de acuerdo con esta idea, así

por ejemplo, Fienninger y colab. (27) (26) reconocían que algunas muestras de insulina (pero no todas) tenían una acción glucoconalítica sobre el hígado perfundido y atribuían esta acción, no a la insulina en sí, sino a una impureza que la acompañaba. Bernard al ocuparse de esta "impureza", dice que se trata de un "co-factor de la amilasa" (4).

Lundsgaard y colab. (35) observaron la presencia de esta impureza en muchas de las muestras purificadas de insulina que eran utilizadas en sus trabajos experimentales. Sus informes mencionaban la diferencia que existía entre los dos clases de insulina, en cuanto a su acción glucoconalítica sobre los cortes de hígado perfundido, "cuando se agrega el líquido de perfusión, la insulina preparada según la técnica de Abel, la concentración de la glucosa en la sangre perfundida decae continuamente, mientras que la adición de la insulina de Scott causa un súbito aumento en la concentración de la glucosa sanguínea, antes de provocar la hipoglucemia. Es obvio entonces, que el nuevo método de preparación introducido por Scott, no extrae el factor hiperglucemiante de la insulina".

Estas propiedades hiperglucémicas fueron aún descritas en muestras cristaliniz de zinc-insulina (38).

Llegamos así al año 1945 y el problema de si es o no un contaminante de la insulina, el que produce este efecto, está sin resolver. Durante ese año de Duve y colab. (21) (17) demostraron la presencia del factor hiperglucemiante en una muestra de insulina preparada en Norteamérica por la E. Lilly & Co. y la ausencia de dicho producto en

una preparación efectuada por la Novo Terapeutisk Laboratorium A S en Dinamarca. La administración de la primera adición de glucosa, a conejos previamente insulinizados, hizo decrecer considerablemente los requerimientos de glucosa necesarios para "mantener" la glucemia, mientras que cuando la experiencia se realizaba con la segunda en las mismas condiciones, los requerimientos se hacían mayores.- La diferencia entre ambas situaciones, mostró la cantidad de factor hiperglucemiante presente en cada muestra, en términos de la cantidad de glucosa que cada una de ellas era capaz de dejar libre en el hígado.

Estas interesantes observaciones fueron más tarde confirmadas por las experiencias de Olson y Klein (39) y por Sutherland y Cori (49) en 1947 y 1948 respectivamente, quienes estudiaron en detalle la acción del factor hiperglucemiante sobre los cortes de hígado, previendo un válido punto de partida para las posteriores investigaciones.

En 1948 se estudió la forma de inactivar la insulina, de manera de dejar en las muestras preparadas, la fracción hiperglucemiante en plena libertad de acción. Zimmerman y Donovan (60) demuestran que dicha inactivación es posible y utilizan para tal fin la cisteína, observando que el material remanente (sin acción hipoglucémica), inyectado a perros normales, tiene una magnitud y efecto semejante, en lo que se refiere a la hiperglucemia, al obtenido con las preparaciones cristalinas sin inactivar.

De Duve y colab. (21) observan que los niveles de glucógeno hepático disminuyen durante los primeros minu-

tes después de la inyección endovenosa de insulina. Sutherland y Cori (49), en cortes de hígado demuestran tanto la glicogenólisis como la glicogénesis, en presencia de preparaciones de insulina activa, mientras que con las insulinas inactivadas, por la cisteína, se produce solamente glicogenólisis.

En los animales pancreatoprivos, la curva de los cuerpos cetónicos se eleva durante algunos minutos, luego de la inyección de insulina inactivada, y después decrece. Aunque la magnitud de la respuesta hipercetémica inicial, es variable, la dirección y el tiempo relativo a las curvas de cetonemia, siguen muy estrechamente los cambios de las curvas de glucemia. Este hecho es compatible con aquél que ha sido descrito, concerniente a las modificaciones que ocurren en el glicógeno hepático en estas circunstancias.

Es evidente entonces, en base a los resultados obtenidos con las insulinas inactivadas, que la acción hiperglucemiante inicial, producida, al ser inyectada insulina por vía endovenosa, es ajena a la estructura molecular de dicha hormona, que es posible separar una sustancia distinta, responsable de dicho efecto y por último que esa sustancia influye en la glucemia y en la elevación de los cuerpos cetónicos de la sangre, solamente a través de su acción sobre el glicógeno hepático. Esta sustancia que no es otra que la descubierta por Kimball y Hurlin, recibió sucesivamente distintas denominaciones, como ser "antiinsulina", sustancia "I", factor hiperglucemiante glicogenolítico (HGF)

o (FHS), factor HS, etc..

Las investigaciones siguientes se orientaron en la forma de poder separar ambas sustancias y estudiar sus propiedades y notamos entre los trabajos publicados, los nombres de los primeros investigadores, que habían retomado así las estudios por ellos iniciados (7) (18) (19) (46) -- (47) (48) (90).

Vinieron a estimular más estas estudios, los trabajos de Marks y Young (37) y los de Therogood y Zimmerman (55), quienes sugirieron que al páncreas, productor de la insulina, "debería segregarse también una hormona antagonista de la misma".

Por fin, Staud (53) consiguió en 1953 obtener cristales de glicogeno a partir de preparadas sueltas de insulina, durante el proceso de purificación comercial de la hormona.

Lugar de formación del glicogeno

Sutherland y De Duve (52) luego de un minucioso estudio sobre distintos tejidos llegaron a la conclusión de que el páncreas es prácticamente el único órgano cuyos extractos tienen marcada actividad glicogenolítica.

Es posible, teóricamente, que tanto el tejido insular como el endocrino del páncreas sean las fuentes productoras de dicha actividad. Sin embargo una manera interesante de demostrar que dicho efecto proviene de la región endocrina, consiste en ligar el conducto excretor y excluir

al tejido endocrino del páncreas mediante la atrofia correspondiente. Las preparaciones efectuadas con el tejido remanente tienen la misma actividad hiperglucémica que los extractos pancreáticos enteros (29) (42) (52). Se concluye de esto que la porción endocrina sería la responsable de la actividad glucogenolítica del páncreas.

Estudiando por separado la acción glucogenolítica en de las distintas partes del páncreas del perro, se llegó a la conclusión de que la cola tiene por lo menos 10 veces más actividad que la cabeza, mientras que la porción media tiene una actividad intermedia entre las dos. Las preparaciones histológicas correspondientes a las mismas partes analizadas, muestran una gran concentración de islotes en la cola, disminuyendo en la parte media y más aún en la cabeza. Esto indicaría que el factor glucogenolítico estaría desigualmente distribuido en las diferentes partes del páncreas, siguiendo la distribución de los islotes.

Además se ha podido comprobar apreciable actividad glucogenolítica en los extractos de los 2/3 superiores de la mucosa gástrica del perro y del conejo (51) (52). Esta propiedad, no ha podido ser comprobada en la mucosa gástrica de los cerdos, ovinos y vacunos. Una pequeña actividad fue observada en los extractos del duodeno y de ileón del perro, mientras que en la región pilórica del estómago y en el resto del tracto digestivo, no hay actividad alguna. Lo mismo se pudo comprobar para todas las secreciones externas de los órganos digestivos. La mayor actividad se ha encontrado en los extractos de páncreas fetal y conejo ya

se ha dicho, en la cola del páncreas adulto, especialmente después de la atrofia del tejido endocrino que se origina por la ligadura del conducto excretor.

Quedaría ahora por establecer, en qué tipo de células se origina el glucagén dentro del tejido insular. Lo que se ha demostrado, sin lugar a dudas, es que las células beta de los islotes, son las responsables de la secreción de la insulina (2) (23) (24) (31) (36).

Algunos investigadores (13) (29) aprovechando la experiencia de ligar el conducto pancreático inyectan al animal alcohólico, de manera de efectuar una destrucción selectiva de las células beta. Las observaciones realizadas demostraron que el tejido remanente poseía la misma actividad glucogénolítica que el tejido sin destruir. Además, se ha observado que los extractos pancreáticos de los animales —alcoholizados, inyectados a conejos normales, producen una prolongada hiperglucemia, sin la subsiguiente hipoglucemia; por lo tanto el origen de la actividad no puede ser las células beta.

Van Campenhout y Cornelle (56) (57) utilizando cloruro de cobalto, consiguen una destrucción transitoria pero selectiva de las células alfa. Esta circunstancia fue aprovechada por Vuytsteke y colab. (59) para investigar el contenido en glucagén del páncreas de los animales tratados con dicha droga, encontrando que la actividad hiperglucemiante de los extractos disminuye por debajo de la tercera parte del valor encontrado en el animal no tratado.

Folien y Road (28) estudian, por otra parte, la

actividad de los extractos pancreáticos de animales que habían recibido una droga llamada Sintalina A (clorhidrato de decanotilarginina) que posee acción destructora selectiva sobre las células alfa de los islotes. Notaron que la actividad hiperglucemiante de los extractos pancreáticos obtenidos, es notablemente menor que la hallada en los animales tratados con cloruro de cobalto. En ambos casos las células alfa son destruidas, pero en el caso del cobalto, el material hiperglucemiante queda en las células vacuoladas, mientras que después de la administración de la Sintalina A, el factor se pierde. Desgraciadamente, la experiencia no se pudo llevar hasta una destrucción total de las células alfa puesto que la sintalina posee un efecto remanente tóxico sobre los riñones, especialmente a la altura del túbulo conturnado proximal (15) (16) llevando a una uremia severa que causa la muerte del animal antes que se produzca la total destrucción de las células alfa.

Hasta tanto no se descubra una droga capaz de producir una total y selectiva destrucción de las células alfa sin causar la muerte del animal, la prueba no será concluyente.

Existen algunas presunciones, de otra naturaleza, sobre el origen del glucagén en las células alfa. Así, por ejemplo, se ha observado que el tejido muscular de las pájaros, muy rico en células alfa, tienen un alto contenido en glucagén.

El glucagén ha sido encontrado en el páncreas de todas las vertebrados investigados. La cantidad presen-

te está directamente relacionada con el número e integridad de las células alfa.

Hasta que no se encuentre otro tipo de células que muestre esa correlación, la mayoría de los autores aceptan la hipótesis de que las células alfa son las únicas -- constituyentes celulares del páncreas que contienen glucógeno (14) (20).

Por otra parte, la presencia de glucógeno en otras partes del tubo digestivo de algunos animales, está asociada a la existencia en esos lugares de un tipo especial de células descritas por Takver (54) que poseen las mismas propiedades tincionales que las células alfa de los islotes de Langerhans (afinidad por tomar la plata, etc.); ello explicaría que la distinta distribución de las células productoras de glucógeno en algunas especies, sería el reflejo de una peculiar distribución de una simple célula tipo durante el desarrollo embrionario.

Algunos autores sugirieron que la sustancia encontrada en la mucosa gástrica era un compuesto semejante a la adrenalina y diferente al glucógeno pancreático. Sin embargo, los métodos de extracción y purificación empleados para obtenerla, son los mismos que los utilizados para el páncreas (49); además el producto obtenido es sensible, como el glucógeno, a las enzimas proteolíticas, posee idénticas propiedades sobre los cortes de hígado (45) y no es higroscópico en su acción por la ergotamina, como sucede con la adrenalina. Por lo tanto, el factor obtenido de la mucosa gástrica es igual o al menos muy semejante al glucógeno pan-

créitico. No se ha encontrado en otros órganos que los intestinos, sustancias semejantes al glucagon. No obstante, algunos investigadores (40) (41) dicen haber encontrado glucagon en el bazo, ganglios linfáticos, páncreas y lengua, pero los resultados no han sido confirmados satisfactoriamente.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - ANGL, J.J. - Proc. Nat. Acad. Sci. - 12: 132, (1926)
- 2 - BAILEY, C. O. y BAILEY, O. T. - J.A.M.A. - 122: 1165, (1943).
- 3 - BANTING, P. G. y BEST, C.H. - J. Lab. & Clin. Med. - 1: 251, (1921/22)
- 4 - BERARD, H. - "Problèmes actuels de biologie générale et de la pathologie expérimentale" - Paris (1939).
- 5 - BLOOM, W. - Anal. Rec. - 49: 363, (1931)
- 6 - BRIDGE, E.M. - Johns. Hopk. Hosp. Bull. - 62: 408, (1938).
- 7 - BURGER, H. - Fortachr. Diag. Ther. - 2: 7, (1930)
- 8 - BURGER, H. y KRANZ, W. - J. exp. med. - 26: 375, (1935).
- 9 - BURGER, H. y KRANZ, H. - J. exp. med. - 62: 487, (1929).
- 10 - BURGER, H. y KRANZ, H. - J. exp. med. - 67: 441, (1929).
- 11 - BURGER, H. y KRANZ, H. - J. exp. med. - 62: 57, (1930).
- 12 - BURGER, H. y KRANZ, H. - Arch. Exp. Path. Pharmac. - 156: 1, (1930)

- 13 - CAVALLERO, C. y MALANDRA, B. - Arch. Soc. Biol. Napoli 14: 138, (1970).
- 14 - CAVALLERO, C., MALANDRA, B. y BOSCA, L. - "Isole Pancreatichhe e Glucagone" - Livorno (1977)
- 15 - DAVIS, J. O. - J. Path. & Bact. - 64: 979, (1952).
- 16 - DAVIS, J. O. - J. Path. & Bact. - 67: 17, (1954).
- 17 - DE DUVE, C. - "Glucose-insuline et diabete" - Bruxelles y Paris (1949).
- 18 - DE DUVE, C. - Rev. Med. Liège - 61: 298, (1951).
- 19 - DE DUVE, C. - Acta Physiol. Pharm. Scand. - 2: 302, (1951).
- 20 - DE DUVE, C. y BERTHET, J. - "Le glucagone" - Actes del IV Réunion des Endocrinologistes de Langue Française, pág. 333. Paris (1957).
- 21 - DE DUVE, C., HERS, H. G. y BOCKAERT, J. P. - Arch. Internat. Pharmacodyn. - 72: 45, (1946)
- 22 - DIAMANT, V. - Monatsh. f. Anat. u. Physiol. - 16: 153, (1899).
- 23 - DUNN, J. S. y Mc LETCHIE, N. G. B. - Lancet - 2: 384, (1943).
- 24 - DUNN, J. S., SHEPHERD, H. L. y Mc LETCHIE, N. G. B. - Lancet - 1: 484, (1943)
- 25 - EVANS, G. - Amst. J. Physiol. - 114: 798, (1941).
- 26 - FIESSINGER, H. y BARKILLER, G. - G. R. Soc. Med. Expt. Zool. - 124: 51, (1946)
- 27 - FIESSINGER, H., BEHARD, H., HERRMANN, H. y DENNER, L. G. R. Soc. Biol. Paris, 122: 32, (1936)
- 28 - FODDER, J. P. y HEAD, W. O. - Endocrinology - 54: 303, (1954).

- 29 - SANDER, K., FERNER, H. y KASTRUP, L. I. H. - Klin. Wochenschr. - 28: 388, (1950).
- 30 - SHILINS, E. H. K. y DE LAUDER, A. H. - J. Pharmacol. - 19: 369, (1930)
- 31 - JACOBS, H. R. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 37: 407, (1937).
- 32 - KIRBALL, G. P. y HUELIN, J. R. - J. Biol. Chem. - 58: 227, (1923).
- 33 - LAKE, H. A. - Am. J. Anat. - 1: 409, (1907).
- 34 - LANGENHANS, P. - "Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Bauchspeicheldrüse" - G. Lange, Reg. 1869.
- 35 - LUNDSGAARD, E., NIELSEN, H. A. y ORSKOV, S. L. - Skandin. Arch. f. Fysiolog. 51: 11, (1939).
- 36 - MACLEOD, J. J. R. - J. Metab. Research. - 2: 149, (1922)
- 37 - MANKS, H.P. y YOUNG, F. G. - J. Endocrin. - 1: 470,
- 38 - OLSEN, H. S. y KLEIN, J. R. - Endocrin. Res. - 6: 282, (1947).
- 39 - OLSEN, H. S. y KLEIN, J. R. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 66: 86, (1947)
- 40 - RAO, H. R. R. y DE, N. H. - Nature (London) - 174: 279, (1954).
- 41 - RAO, H. R. R. y DE, N. H. - Acta endocrinol. - 18: 293, (1955).
- 42 - RODRIGUEZ CAMBILA, J. L. - "Hormonal Factors in Carbohydrate Metabolism" - Little Brown & Co., Boston (1953).
- 43 - SCOTT, D. A. - Diabetes J. - 28: 1592, (1934).

- 44 - SHIPLEY, R. A. y HUNEL, R. J. - ANNA. J. PHYSIOL.
144: 51, (1945).
- 45 - STAUB, A. y BERNHENS, O. K. - J. Clin. Invest. - 33:
1629, (1954).
- 46 - SUTHERLAND, E. W. - Recent Progress Hormone Res. - 5:
441, (195).
- 47 - SUTHERLAND, E. W. - "Theophorous Metabolism" - Bal-
timore (1951).
- 48 - SUTHERLAND, E. W. - Ann. N. Y. Acad. Sci. - 54: 693,
(1951).
- 49 - SUTHERLAND, E. W. y CORI, G. F. - J. Biol. Chem. 172:
737, (1948).
- 50 - SUTHERLAND, E. W. y CORI, G. F. - J. Biol. Chem. -
182: 531, (1951)
- 51 - SUTHERLAND, E. W., CORI, G. F. y HAYNES, R. - J. Biol.
Chem., - 182: 825, (1949).
- 52 - SUTHERLAND, E. W. y DE DUVE, C. - J. Biol. Chem. -
175: 663, (1948).
- 53 - STAUB, A., SIHN, L. y BERNHENS, O. K. - Science - 117:
628, (1953).
- 54 - TENVER, J. - J. Nutr. Res. French. - 21: 462, (1930).
- 55 - THOROGOOD, R. y SIMMERMAN, B. - Endocrinology - 37:
191, (1945).
- 56 - VAN CAMPERHOOT, E. y CORNELIS, G. - C. R. Soc. Biol.
1451 913, (1951).
- 57 - VAN CAMPERHOOT, E. y CORNELIS, G. - Bull. Acad. Natl.
Belg. - 16: 382, (1955).
- 58 - VON MEHRING, J. y NIKOVSKI, O. - Arch. Surg. Path.

- u Pharmazie. - 26: 371, (1950).
- 59 - VUILSTEKE, G. A., CORNELIS, G. y DE DUVE, G. - Citado por DE DUVE, Lancet - 2: 99, (1953).
- 60 - KEMMERMANN, B. y DONOVAN, T. L. - Amst. J. Microbiol. - 151: 197, (1948).

CAPITULO XI

El glucogeno: purificación y cristalización. Conocimientos actuales que se tienen sobre sus propiedades físicas, químicas y sobre su composición molecular. Fórmula estructural. Ensayos de pureza. Bibliografía.

Ya hemos hecho mención de las observaciones -- que indicaban que cuando la insulina se administraba por vía endovenosa manifestaba, en un primer momento, una acción hiperglucemiante, fenómeno este que se trató de explicar como una acción propia de dicha hormona y luego como la resultante de un compuesto que la impurificaba y de difícil separación.

El interés por este "contaminante" fue aumentando de a medida que progresaban las técnicas de preparación de la insulina, en el sentido de determinar su composición molecular.

Las dificultades que se presentaron en la separación de estos compuestos, está basada, como veremos luego, en la gran semejanza química que existe entre ellos.

Los primeros ensayos de purificación del glucogeno datan del año 1935. Soyb (24) obtiene un material activo de propiedades químicas semejantes a la insulina.

Marger y Brandt (5) consiguen aislar una fracción muy activa, la que sin embargo contenía algo de insulina. Resultados semejantes en cuanto a su pureza, obtuvieron Casal y colab. (8) en el año 1950 llegando sólo a una

purificación parcial del producto.

Aprovechando la propiedad que tiene el glucogeno de no formar fibrillas, como lo hace la insulina, cuando es calentado con ácido clorhídrico diluido, Sutherland y colab. (19) pudieron separar ambos productos, pero el rendimiento del método era extremadamente bajo y la separación en definitiva no era cuantitativa. Se pensó en mejorar la obtención del glucogeno utilizando el material remanente de la inactivación de la insulina por los álcalis pero se tropezó con la dificultad de que el tratamiento producía degradación química del glucogeno como lo pretaron Sutherland y Geri (29).

Desde entonces, los preparados más activos de glucogeno se obtuvieron por fraccionamientos químicos (9) — (11) (30) o por métodos cromatográficos o electroforéticos (18) (28). La velocidad de migración del glucogeno es ligeramente menor que la de la insulina; el punto isoelectrico es muy semejante.

Goode y colab. (12) dicen haber separado el glucogeno de la insulina por fraccionamiento con cloruro de sodio, pero desgraciadamente dichos autores no han publicado mayores detalles del método.

En 1953, Staub y colab. (25) (26) publican un método para la purificación y cristalización del glucogeno, utilizando como materia prima una fracción amorfa proveniente de la purificación comercial de la insulina. A grandes rasgos, el método consiste en separar la insulina mediante la precipitación a pH 6,7, efectuándose luego extracciones

sucesivas con acetona diluida y reiteradas precipitaciones y redisoluciones a pH bien controlado en solución buffer de acetato-fosfato. Se obtiene así un producto cuya actividad revela tener un 70% de pureza, del que se consigna, una vez disuelto en solución buffer alcalina y centrifugado a 64.000 g. en líquido sobrenadante que al permanecer en reposo 12 hs., deja un precipitado constituido por cristales de glucagon puro.

La curva de absorción de estos cristales al ultravioleta muestra un máximo a 278 m μ y un mínimo a 290 m μ . Pertenecen al sistema icosaédrico y aparecen como sutiles rayos dodecaédricos bien definidos.

Los cristales son insolubles en agua fría a pH 7. En presencia de electrolitos el glucagon es insoluble a pH inferior a 10; en soluciones ácidas de pH inferior a 4, el glucagon forma fibrillas insolubles.

En contraste con la insulina, el glucagon puede cristalizar en ausencia de zinc. En las preparaciones de insulina cristalizada, el zinc une la histidina de la molécula del glucagon con el grupo imidazol de la molécula de insulina y forma un complejo capaz de resistir los procesos ordinarios de purificación; este hecho explica por qué muchas preparaciones cristalinas de insulina contienen glucagon (14).

El glucagon es precipitado por el ácido tricloroacético; reacciona positivamente frente a los reactivos de Felin-Giacolton, de Sakaguchi, de Millon, del biuret y al 1-2-nitrosonaftol.

Como puede verse en el cuadro 1, (2) el análisis elemental del glucogeno muestra a esta sustancia muy semejante a la insulina, salvo en su bajo contenido en azufre.

Cuadro 1

	C %	H %	N %	S %
Glucogeno	52,03	6,42	14,38	0,71
Insulina	49,91	7,16	14,41	2,94

El peso molecular mínimo calculado en base a su contenido en azufre es de 3482, valor que está en concordancia con los datos obtenidos con la ultracentrifuga.

Por otra parte, en el cuadro 2 puede verse la composición cualitativa en aminoácidos del glucogeno y de la insulina, notándose gran semejanza entre ambos productos. El glucogeno no contiene cantidades revelables de cistina, isoleucina y prolina, pero se hallan en él, metionina y triptófano ausentes en la molécula de insulina. La metionina es el único aminoácido sulfurado del glucogeno (27) (30). La ausencia de cistina, probablemente explica la relativa resistencia del glucogeno al tratamiento con los álcalis, propiedad esta que se ha utilizado para la obtención de soluciones de glucogeno libres de insulina activa.

El glucogeno, lo mismo que la insulina se hidroliza por enzimas proteolíticas, siendo más atacable por la tripsina. Pero a diferencia de la insulina resiste la se-

cida proteolítica si previamente se ha incubado con cistina (6) (9) (29) (30) (32).

Las características químicas del gincogen demuestran que esta sustancia es diferente a la nucleoproteína descrita por Mohrle y Esser (4) (16) (17), del complejo amino-aminoácido de Weitaci y colab. (34) o del material lipídico soluble de De Waele (10) con los que alguna vez se lo confundió.

Cuadro N.º 2

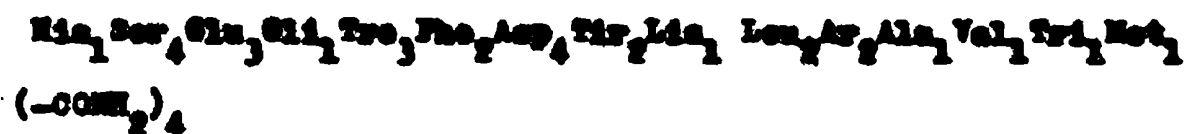
Cuadro comparativo de la composición cualitativa en aminoácidos de la insulina y del gincogen

Aminoácidos	Insulina	Gincogen
Acido aspártico	Contiene	Contiene
Treonina	Contiene	Contiene
Serina	Contiene	Contiene
Acido glutámico	Contiene	Contiene
Prolina	Contiene	No contiene
Glicina	Contiene	Contiene
Alanina	Contiene	Contiene
Cistina	Contiene	No contiene
Valina	Contiene	Contiene
Isoleucina	Contiene	No contiene
Leucina	Contiene	Contiene
Tirosina	Contiene	Contiene
Fenilalanina	Contiene	Contiene

Aminoácidos	Insulina	Glicogen
Histidina	Contiene	Contiene
Lisina	Contiene	Contiene
Arginina	Contiene	Contiene
Metionina	No contiene	Contiene
Triptófano	No contiene	Contiene

Fórmula estructural del glicogen

Como puede apreciarse en el cuadro 2, el glicogen se halla compuesto por 15 aminoácidos distintos. Las distintas fracciones fueron aisladas e identificadas por métodos cromatográficos sobre papel e sobre columna. Al mismo tiempo se determinó el número de veces que cada aminoácido aparecía en la cadena, obteniéndose entonces la siguiente fórmula empírica (5):



Las abreviaturas corresponden a:

His: Histidina o ácido β -imidazol- α -aminopropiónico

Ser: Serina o ácido β -hidroxi- α -aminopropiónico

Glu: Ácido glutámico o ácido α -aminoglutiánico

Gln: Glutamina o ácido aminocrotonico

Tro: Treonina o ácido γ -hidroxi- α -aminobutírico

Phe: Fenilalanina o ácido β -fenil- α -aminopropiónico

Asp: Ácido aspártico α -aminosuccínico

Tir: Tirocina o ácido β - p -hidroxi-fenil- α -aminopropiónico

Lis: Lisina o ácido α - ϵ -diaminopropiónico

Leu: Leucina o ácido α -amino-isobutírico
Arg: Arginina o ácido ϵ -guanilaminovalérico
Ala: alanina o ácido α -aminopropiónico
Val: Valina o ácido α -amino-isovalérico
Trp: Triptófano o ácido ϵ -indol- α -aminopropiónico
His: Histidina o ácido α -amino-gama-metiltiobutírico
-CONH₂: Grupo amido.

El problema que a continuación se presentó fue determinar la secuencia de estos aminoácidos en la cadena. Se empezó por establecer los aminoácidos que constituyen los extremos de la misma. (Estos aminoácidos difieren de los demás, porque están cada uno de ellos unidos a un solo aminoácido de la cadena).

El primero de la serie o aminoácido N-terminal tiene un grupo amino no combinado mientras que el último o aminoácido C-terminal tiene un grupo carboxilo no saturado.

En 1945, Zanger (19) describió un método para la identificación del aminoácido N-terminal en los polipéptidos. Este procedimiento se basa en la reacción cuantitativa entre el grupo amino libre y el 2,4-dinitrofluorobenceno formando las dinitrofenilproteínas (D.N.F.). Las combinaciones DNF, tienen características color amarillo que permanece aún después de que el aminoácido identificado se separa de la cadena por hidrólisis o por procedimientos cromatográficos, de esta forma puede identificarse cuali y cuantitativamente el aminoácido N-terminal. En el caso que nos ocupa se trata de la histidina.

El aminoácido C-terminal fue identificado por el método de Ahlberg y colab. (1) que consiste fundamental-

mente en formar hidrazidas con todos los aminoácidos de la cadena péptica menos con el aminoácido C-terminal.

Por este método se demostró la presencia en dicho lugar de la treonina. Al mismo tiempo, estas experiencias sirvieron para demostrar que el glucagén está formado por una cadena lineal.

Para determinar la secuencia de los otros 27 aminoácidos componentes de la cadena se utilizaron las mismas técnicas empleadas por Sanger es la insulina (20) (21) (22) que consisten en efectuar hidrólisis parciales empleando diversas enzimas proteolíticas y deducir por los análisis de las distintas fracciones obtenidas la estructura péptica.

Se emplearon tres enzimas: quimotripsina, tripsina y subtilina; cada una de ellas divide los uniones peptídicas entre aminoácidos específicos.

La quimotripsina hidroliza predominantemente las uniones peptídicas que involucran los grupos carbonílicos de al fenilalanina y la tirocina (7). Se obtienen así las siguientes 6 fracciones pépticas:

- 1-His (Ser, Glu, Glu, Tre, Phe)
- 2-Tre (Ser, Asp, Tir)
- 3-Ser (Lis, Tir)
- 4-Leu (Asp₂, Ser, Arg₂, Ala, Glu, Phe)
- 5-Val (Glu, Tri)
- 6-Leu (Met, Asp, Tre)

nile de los grupos fuertemente básicos: arginina y lisina (13) (22). La hidrólisis del glucagón por medio de la tripsina deja, luego de dos horas estos cuatro fragmentos:

1-His (Ser₃,Glu,Gli,Tro₂,Phe,Asp,Tir,Lis)

2-Tir (Leu,Asp,Ser,Arg)

3-Arg.

4-Ala (Glu₂,Asp₂,Phe,Val,Tri,Leu,Met,Tro)

Si la hidrólisis dura 50 horas se producen dos divisiones adicionales "no características" asíándose de este modo las siguientes fracciones:

1-His (Ser,Glu,Gli,Tro,Phe)

2-Tro (Ser₂,Asp,Tir,Lis)

3-Tir (Ser₂,Asp,Tir,Lis)

4-Arg

5-Ala (Glu₂,Asp,Phe,Val,Tri)

6-Leu (Met,Asp,Tro)

De la acción enzimática de la proteínasa, proveniente del *Bacillus subtilis*, se obtienen 11 fracciones, a saber:

1-His (Ser,Glu)

2-Gli (Tro,Phe)

3-Tro,Ser

4-Asp (Tir,Ser)

5-Lis,Tir

6-Leu (Asp,Ser,Arg)

7-Arg (Ala,Glu)

Hie-Ser-Glu-Gli-Erv-Phe-Tro-Ser-Asp-Tir-Ser-Lis-Gly-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Glu-Asp-Phe-Val-Gln-Tri-Ion-Met-Asp-Tre-

Eslabones retos por la quimotripsina																						
Eslabones retos por la tripsina en 2 hs.																						
Eslabones retos por la tripsina en 50 h.s.																						
Eslabones retos por la subtilisina.																						

CUADRO 3

- 8-Asp, Phe
 9-Val (Glu, Trp)
 10-Leu, Met
 11-Asp, Trp

Se llegó así, relacionando las distintas fracciones obtenidas con las enzimas, a deducir una fórmula estructural para el glucagón, como puede verse en el cuadro 3. En él se notan los lugares sobre los que actúan dichas enzimas y la forma en que fueron oscilomadas las fracciones obtenidas.

ENSAYOS DE PURIFICACIÓN.

Al presente, no se conoce un método químico sencillo para ensayar la pureza del glucagón; las determinaciones que se hacen al respecto están basadas en sus propiedades biológicas. Se emplea frecuentemente la respuesta hiperglucémica en gatos, pero existen métodos más sensibles y exactos como ser el que se hace en medir el aumento de la eliminación de la glucosa en cortes de hígado (33) o el de la estimulación de la actividad de la fosforilasa en el hígado homogenizado (3).

De cualquier modo, la determinación del glucagón en materiales biológicos es bastante difícil, excepto en tejidos como el del páncreas, en donde está presente en gran cantidad.

El ensayo en sangre es imposible sin purificación. A este respecto, recientemente se consiguió en impug

tante avances por medio de las experiencias de Nakama y colaboradores. (15) quienes idearon un procedimiento de purificación que hace posible una determinación real en el plasma del perro o del hombre. Estos autores han encontrado valores de 2 a 9 mcg por 100 ml de plasma en el hombre y de 1 a 14 mcg por 100 ml en el plasma del perro. Tyberghein y Williams (31) encontraron valores de 0,1 a 0,4 mcg por 100 ml en el plasma del conejo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - AKABORI, G. D., OHNO, K. y HARIYA, K. - Bull. Chem. Soc. JAPAN - 25: 214, (1952)
- 2 - BREHENS, O.K., STAUB, A., BOOT, H.A. y BROER, W.W. "Colloquia on Radiochemistry, Ciba Foundation". Vol. IX. Londres (1956).
- 3 - BERTHET, J., RALL, T.W. y SUTHERLAND, E.W. - J. Biol. Chem. - 222: 351, (1957).
- 4 - BOSCH, M. - Radiochimica Acta - 41: 193 (1954).
- 5 - BROER, W.W., SIMS, L.G., STAUB, A. y BREHENS, O.K. - J. Am. Chem. Soc. - 78: 1858, (1956).
- 6 - BURGER, H. y BRANDT, W. - J. Am. Chem. Soc. - 96: 375, (1935).
- 7 - BUTLER, J.A.V., PHILLIPS, D.M.P., STEPHEN, J.M.L. y GIBSON, J.M. - Nature - 46: 74, (1950).
- 8 - CAZAL, L.A., WOLFE, E.K., SPIGHER, D.S. y BARNES, R.H. Ann. N.Y. Acad. Sci. - 74: 8, (1959).

- 9 - DE DUVE, C. y VUILSTEKE, C.A. - Arch. Internat. de Physiol. - 51: 207 (1953).
- 10 - DE WAKLE, H. - Arch. Internat. Physiol. - 55: 209 (1948)
- 11 - FOA, P.P., BERGER, S., SANTAMARIA, L., SMITH, J.A. y WEINSTEIN, H.R. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 81: 758 (1953).
- 12 - GAEDR, K., FERNER, H. y KASTRUP, L.I.H. - Klin. Wochschr. 28: 388, (195).
- 13 - HARRIS, J.I. y LI, C.H. - J. Am. Chem. Soc. - 74: 2945, (1952).
- 14 - HOLT, G. - J. Vitamin - Hormon. u. Immunstoffwech. - 7: 138, (1955).
- 15 - HAKMAN, M.H., HAKMAN, R.S. y SUMNERLAND, E.W. - J. Biol. Chem. - 211: 894, (1958)
- 16 - HORNIKER, G. - Klin. Wochschr. - 33: 132, (1955).
- 17 - HORNIKER, G. y BOWER, H. - J. Gen. Exptl. Med. - 121: 415, (1954).
- 18 - PORTER, R.R. - "The Oiba Foundation Symposium on the Chemical Structure of Proteins". Pág. 31. Little, Brown, Londres (1952).
- 19 - SANGER, F. - Nachr. J. - 12: 907, (1945).
- 20 - SANGER, F., SMITH, L. F. y KITAI, R. - Nachr. J. 52: VI, (1954).
- 21 - SANGER, F. y THOMPSON, E. O. P. - Nachr. J. - 51: 353, (1953).
- 22 - SANGER, F. y THOMPSON, E. O. P. - Nachr. J. - 51: 366, (1953).
- 23 - SANGER, F. y TUPPY, H. - Nachr. J. - 49: 463, (1951)
- 24 - SOFF, J.W. - J. Gen. Exptl. Med. - 95: 817, (1935).

- 25 - STAUB, A., SINH, L. y REINHENS, O. K. - J. Biol. Chem.
214: 619, (1955).
- 26 - STAUB, A., SINH, L. y REINHENS, O.K. - Science - 117:
628, (1953).
- 27 - STAUB, A., SINH, L. y REINHENS, O. K. - Federation Proc.
23: 303, (1954).
- 28 - STEIGERWALD, S. - Klin. Wochenschr. - 31: 305, (1953).
- 29 - SUTHERLAND, E. W. y CORI, C. F. - J. Biol. Chem. 172:
737, (1948).
- 30 - SUTHERLAND, E. W., CORI, C. F., HAYNES, R. y OLSEN, H.
S. - J. Biol. Chem. - 180: 825, (1949).
- 31 - TYRERSONEN, J. y WILLIAMS, R. H. - Metabolism - 7:
635, (1958).
- 32 - VAN ARMAN, F. R. y CAMPBELL, E. D. - Federation Proc.
10: 263, (1948).
- 33 - VUJLSTEER, C. A. y DE DUVE, C. - Arch. internat. de
Physiologie et de Biochim. - 111: 437,
(1957).
- 34 - WEITZEL, G., FRETSCHEFF, A. H., STROCKER, F. J. y
ROBSTER, U. - J. Biol. Chem. - 221:
190, (1953).

CAPITULO III

Naturaleza hormonal del glucagon: a) síndrome de deficiencia, b) síndrome de exceso, c) secreción en el torrente circulatorio y su regulación, e) falta de especificidad de especie. Destrucción y curación. Propiedades biológicas y fisiológicas. Mecanismo de acción, importancia clínica. Bibliografía.

Si la existencia del glucagon no puede ponerse en duda, su naturaleza hormonal no ha sido establecida aún con certeza. Veamos como es comporta frente a las criticas usuales para que una sustancia sea considerada como una hormona.

a) Síndrome de deficiencia de glucagon.

No puede producirse un síndrome de deficiencia puro de glucagon por medios quirúrgicos, ya que la extirpación de las células alfa del páncreas necesita la extracción simultánea de las células beta y del tejido acinar. Sin embargo es posible definir síntomas característicos de la supresión de las células alfa mediante la comparación de los requerimientos de insulina por los animales diabéticos por el alcano con aquellos pancreatoprivos, para mantener su glucemia normalizada. Los animales alcanizados no tienen células beta, poseen sí las alfa intactas; tienen necesidad de un requerimiento de insulina relativamente alto, posiblemente porque ellos están desprovistos de las células productoras de insulina, mientras que, en los animales pancreatoprivos, el requerimiento de insulina es más bajo, posiblemente

mente porque la ausencia de las células productoras de insulina está compensada parcialmente por la falta simultánea de las células productoras de glucagon (22) (33) (55) (56) (74).

Acorde con esta hipótesis, se ha demostrado que la pancreatectomía reduce los requerimientos de insulina de los animales diabéticos por el alcano (111) (136), de los animales con diabetes metahipofisaria (69) (89) y de la diabetes humana (32) (110). Es posible que en alguna forma esta reducción sea debida a la disminución en la absorción de los alimentos como resultado de la falta de las enzimas pancreáticas (94), pero esta posibilidad ha sido totalmente descartada (20) (89) (112), dándose por el momento como la más probable explicación aquella que indica una verdadera deficiencia de glucagon.

Los intentos por destruir selectivamente las células alfa por métodos químicos ya han sido discutidos. Los resultados son contradictorios, no obstante ello, algunos investigadores creen haber obtenido una típica deficiencia de glucagon por esta vía (68) (69), pero la interpretación de sus resultados es muy discutida.

b) Síndrome de exceso de glucagon

Algunos investigadores opinan que existe una secreción excesiva de glucagon en la diabetes mellitus. Foxner (45) y Hess (66) probaron que en el páncreas de las personas diabéticas no sólo se notan signos de deficiencia de actividad de las células beta, sino que también un aumento en el número de las células alfa.

Estos resultados no han podido ser confirmados por otros investigadores, siendo además criticables las técnicas tintoriales empleadas por ser dudosa su especificidad (29) (80). Serán necesarias nuevas experiencias antes de que pueda aceptarse que la diabetes mellitus sea una forma de hiperglucagonismo.

Otra forma posible de hipersecreción primaria de glucagon, es el síndrome de hiperglucemia en ratones obesos. Este síndrome se caracteriza por un marcado incremento en la actividad de la fosforilasa hepática (123), por hiperglucemia con insulina resistencia y por hiperglucemia secundaria de las células beta, con un contenido aumentado de insulina en el páncreas. Todas estas anomalías se hacen reversibles por tratamiento con dietilditioacetato, uno de los venenos de las células alfa (90).

Han sido descritos tumores pancreáticos algunas veces asociados con un incremento en la sangre de una sustancia semejante al glucagon (149), y algunos pocos casos de diabetes mellitus con tumores de las células alfa del páncreas (140) pero no han sido determinados en ellos el contenido en glucagon.

La administración continua de glucagon en solición acuosa no produce hiperglucemia prolongada y glucosuria (54) (72) (118), a menos que los animales hayan sido previamente tratados con cortisona (21) (99), pero tales efectos han sido obtenidos con repetidas inyecciones de grandes dosis de glucagon en suspensión oleosa (121).

e) La secreción de glucagon en el torrente circulatorio y su regulación.

Cavaliere y Malandra (20) muestran la existencia de la secreción de glucagon, por injerto de páncreas de ratas diabéticas por el alcano en la cavidad peritoneal de ratas normales. Además, otros investigadores, han demostrado la existencia de glucagon libre de la sangre de la vena pancreática de los animales alcanizados (51), en la de los perros normales (53) y en el torrente circulatorio de las personas diabéticas (79). Hoy se conocen inclusive, como he mos dicho anteriormente, técnicas que dejan el glucagon en el plasma y se conocen sus valores normales (88) (139).

Una evidencia de que el glucagon es segregado en la corriente circulatoria por el páncreas, se deduce de las famosas experiencias de la circulación cruzada de Fox y colab. (47) (48) (51). Estas autores han sugerido que la secreción de glucagon puede ser estimulada por la hipoglucemia. En algunas experiencias, la sangre pancreática de un perro donador (D) fluye en otro perro receptor (R) a través de la vena pancreato-funcional anastomizada con la vena femoral del perro R. La sangre pancreática del perro D circula así en el perro R, mientras que la sangre periférica del perro R retorna al primero por anastomosis de su arteria femoral con la vena femoral de D, para mantener la volemia y la presión sanguínea de los dos animales. Con esta técnica, puede ser investigada la secreción de insulina e glucagon del páncreas del perro D, por los cambios producidos en la glucemia del perro R.

Si se ha creado una hipoglucemia en el perro D, por inyección de insulina, se observa una marcada hiperglucemia en el perro R. Esto sugiere que la hipoglucemia insulínica en el perro D produce aumento en la secreción de glucagón, el que llevado a través de la anastomosis pancreático-funcular al perro R produce la elevación de su glucosa sanguínea. Cuando en las experiencias de control se hicieron la conexión de los perros por anastomosis mesentérica-funcular, la inyección de insulina en el perro D, es seguida de un decrecimiento de la glucemia en el perro R, posiblemente porque la sangre mesentérica contiene algo de la insulina inyectada, pero no glucagón.

Se puede producir hiperglucemia en vez de hipoglucemia en el perro D; cuando se inyecta en el perro D, glucosa o glucagón, la suba del nivel de su azúcar sanguíneo es acompañada por una aguda hipoglucemia en el perro R, por lo que se deduce que la hiperglucemia estimula el páncreas del donar produciendo insulina. Cuando los perros son conectados por medio de la anastomosis mesentérico-funcular, la inyección de glucosa en el perro D, es seguida de un aumento de la glucemia en el perro R, porque la sangre mesentérica del perro D, contiene glucosa, pero no insulina. Del mismo modo, cuando la sangre deriva de un perro aluminado, la inyección de glucosa en el perro D es seguida por una elevación de la glucemia en el receptor, ya que la sangre pancreática contiene glucosa y probablemente glucagón, pero no insulina. La inyección de solución fisiológica, no produce cambios significativos en la glucemia de ambos pe-

FFOS.

Estos resultados sugieren que la secreción de insulina y de glucagon pueden estar mutuamente balanceadas a través de sus efectos sobre la concentración de glucosa de la sangre. Estos hechos explican por qué la acción de la insulina y del glucagon son más significativas en los animales pancreatoprivos que en los normales (9) (23) (48) (100) y por qué la producción de la glucosa por el hígado aumenta luego de su depresión por la insulina (4) (75).

De acuerdo con estos resultados, el tratamiento con insulina causa un incremento en el contenido de glucagon (86) y en el número de células alfa del páncreas (19) (58). En contraste con lo anteriormente dicho, Bürger (13) opina que la secreción de glucagon sería estimulada por la hiperglucemia alimentaria aún más que por la hipoglucemia.

Se ha sugerido asimismo, que la secreción de glucagon puede ser estimulada también por la hipófisis anterior. La hipofisectomía causa involución de las células alfa (46) y la administración de la hormona de crecimiento corrige tal involución (81) y produce un temporario aumento en el número (65), tamaño (1), y velocidad de reproducción (19) de las células alfa. El tratamiento prolongado no obstante, puede causar aglutinación de dichas células (57).

Fedeli y colab. (43) mostraron que la hipofisectomía conlleva a una reducción en el contenido del glucagon del páncreas, mientras que el tratamiento con hormonas de crecimiento produce aumento.

Otros investigadores observan que la administración de hormona de crecimiento produce la aparición de un material hiperglucemiante, presumiblemente glucagén, en la sangre pancreato-duodenal en gatos y perros (10) (49) (53). Los resultados de la experiencia de circulación cruzada, muestran que la inyección endovenosa de hormona de crecimiento, es seguida de una inmediata hiperglucemia, tanto en el perro D como en el receptor (17) (49) (76) (103). -- Efectos hiperglucémicos similares se han observado en perros normales y en perros o ratas diabéticas por el alomano (83). La hiperglucemia provocada por la hormona de crecimiento en el hombre parece estar asociada con aumento en la producción de glucosa por el hígado (39) (75), efecto éste característico del glucagén.

Recientemente, Sirek y Best (124) dicen haber encontrado un material hiperglucemiante en la sangre pancreática de los animales tratados con hormona de crecimiento, pero piensan que se trata de una sustancia distinta del glucagén, mas bien semejante a la adrenalina, ya que es posible bloquear su acción con dihidroergotamina, droga ésta que no tiene acción sobre el glucagén (35) (142).

Es necesario puntualizar que la inyección endovenosa de la hormona de crecimiento no siempre es seguida de hiperglucemia. Algunos autores han encontrado disminuciones del azúcar sanguíneo seguidas a la administración endovenosa de dicha hormona, en ratas normales, conejos, gatos, perros normales e hipofisectomizados (8) (11) (82) (92) (93) (120) (124) (143).

En los perros pancreatoectomizados la adminis-

tracción de la hormona puede causar hipoglucemia (82) e hiperglucemia, dependiendo ello del nivel inicial de la glucemia (124).

Las razones por las que se producen estos resultados contradictorios e las condiciones en que se efectúa la respuesta a la hormona de crecimiento, no están claras aún. Se ha sugerido que depende entre otras cosas de la dosis de la hormona inyectada, que el pH de la solución puede ser efecto determinante (103) (104) y que los resultados dependen de la intrínseca habilidad del páncreas de responder con un incremento de la secreción de insulina e glucagón a un incremento en la demanda de dichas hormonas (3) (16) (69) (148).

Algunos investigadores han demostrado que el contenido en glucagón del páncreas disminuye luego de la tireoidectomía, ovariectomía o la administración de estrógenos y que se incrementa, luego de la ovariectomía o del tratamiento con andrógenos, cortisona o AGH (41) (42) (43) (44).

d) Falta de especificidad de especie

La falta de especificidad de especie ha sido demostrada por las observaciones de que el glucagón extraído del páncreas humano, vacuno, cerdo o perro, es activo en otras especies de mamíferos (52) (85) (110) (109) (106) -- (126) y que el glucagón extraído del pezado es activo en ratas (87).

Podemos concluir que, a pesar de lo dicho, el glucagón no cumple cabalmente todos los criterios actuales

para ser considerado una hormona y que son necesarias nuevas y más concluyentes experiencias para probar su total naturaleza hormonal.

El hecho de que el glucagon haya sido encontrado también en tejidos no pancreáticos, no descarta la posibilidad de su naturaleza hormonal ya que en otros sistemas endocrinos, de la misma manera, se han descrito glándulas accesorias productoras de hormonas.

Destrucción y sustracción

El glucagon pierde su actividad cuando es perfundido en el hígado o cuando es incubado con extractos de riñón, hígado, músculo o con la sangre (97). Esta destrucción parece ser debida a un sistema enzimático propio del citoplasma celular, pero que el mismo es capaz de destruir inulina u otras proteínas además de glucagon (137).

Nada se sabe sobre el destino final del glucagon. Se han descrito la presencia de sustancias hiperglicemiantes y glucogenolíticas en la orina de los individuos normales, diabéticos o equinocefálicos (95) (96) (119), pero parece ser que esas sustancias son distintas del glucagon.

Exámenes biológicos y fisiológicos

La acción más notable del glucagon es sin duda alguna provocar un aumento en la concentración del azúcar sanguíneo. La magnitud y duración de este aumento depende

en principio, de la dosis, de la vía de administración y del estado de nutrición del animal. En efecto, se ha observado que su acción va en aumento cuando se lo administra por vía subcutánea, intramuscular y endovenosa o intraperitoneal y muy especialmente cuando se lo inyecta en la vena porta que lo conduce directamente al hígado.

El efecto del glucagón decrece cuando están disminuidas las reservas de glucógeno hepático como ocurre en el ayuno prolongado, en las enfermedades graves del hígado, acidosis diabética, etc., y es nulo cuando ha sido obstruida la circulación hepática o se ha extirpado el hígado (47).

La hiperglucemia producida por el glucagón va acompañada por un incremento en la formación de glucosa por el hígado (75), y se aumenta por la anestesia (85) y por el tratamiento previo con AOTI, cortisona u hormona del crecimiento (64) (73), posiblemente porque estas hormonas favorecen el depósito de glucógeno en el hígado.

Contrariamente a lo que ocurre con la adrenalina, el efecto hiperglucemiante producido por el glucagón no es bloqueado por la dihidroergotamina (35) (142).

En experiencias realizadas con administración de dosis únicas elevadas de glucagón, se produce un descenso franco e inmediato del glucógeno hepático (15) (27) (28); por el contrario, ratas tratadas con pequeñas cantidades pero continuamente, el glucógeno hepático es normal (34) o puede estar aumentado, aún si la experiencia se prolonga largo tiempo (117). Las razones de este fenómeno, aparentemente paradójico, han sido investigadas por Fox y colab. utili-

sando para elle ratas normales, diabéticas por el alcano, adrenalectomizadas o hipofisectomizadas. En las ratas normales el glucagon produce un descenso inmediato del glucógeno hepático, seguida 24 hs. después, por un aumento a valores significativamente superiores al inicial, y es acompañado por un descenso simultáneo del ácido ascórbico. Este fenómeno es similar al observado luego de la inyección de adrenalina (84). En las ratas alcanizadas, la inyección de glucagon es seguida también de un descenso inmediato del glucógeno hepático, pero aquí no sobreviene el efecto secundario anteriormente dicho. Del mismo modo, siempre que las reservas de glucógeno en el hígado no están excesivamente bajas, la adrenalectomía y la hipofisectomía no interfieren con la acción glucogenolítica del glucagon, pero en gran parte, en estas condiciones se reduce dicho efecto secundario. Este efecto secundario se produce, también, con una magnitud significativa, en ratas adrenalectomizadas luego del tratamiento con cortisona y en ratas hipofisectomizadas después de la inyección de insulina.

Se ha observado que la hiperglucemia producida por el glucagon va acompañada por un aumento del potasio sanguíneo (145), probablemente porque este catión sale del hígado durante la glucogenólisis.

Estas experiencias sugieren que el efecto primario del glucagon es una aceleración de la glucogenólisis hepática.

El mecanismo de su acción glucogenolítica fue estudiada "in vitro" por numerosos investigadores cuando la

típicas de los cortes hepáticos (24) (25) (107) (108) (130) (132) (133) (147). El agregado de glucagon al medio que baña los cortes, da lugar a una degradación química del glucagone con liberación de glucosa, con mayor rapidez a la que se observa en los cortes testigo. Asimismo, estas experiencias llevaron a la demostración de que tanto el glucagon como la adrenalina aumentaban la glucogenólisis por estimulación de la etapa de fosforilación. La fosforilasa es la enzima que regula la glucogenólisis, al menos "in vitro". La activación de la fosforilasa por parte del glucagon, como la adrenalina, se lleva a cabo "in vitro" como "in vivo".

Sutherland y colab. (108) (132) (146) (147) demostraron que la fosforilasa hepática es una fosfoproteína que se transforma por defosforilación en una forma inactiva: la defosforilasa. Esta reacción es catalizada por una fosfoproteína-fosfatasa. La fosforilasa inactiva puede ser reactivada por refosforilación con ATP y una quinasa específica.

El nivel de fosforilasa activa en el hígado es la resultante de dos sistemas antagonistas. La transformación de la forma activa en inactiva e viceversa es muy rápida (129). En condiciones basales, el nivel de fosforilasa activa es bajo, estando la mayor parte de la enzima en su forma inactiva. El glucagon, así como la adrenalina, modifica con rapidez el equilibrio dinámico del sistema hacia un nivel alto de la forma activa (Fig. 4).

Recientemente (107) (131) se ha podido demostrar que cuando actúan el glucagon o la adrenalina sobre los co-

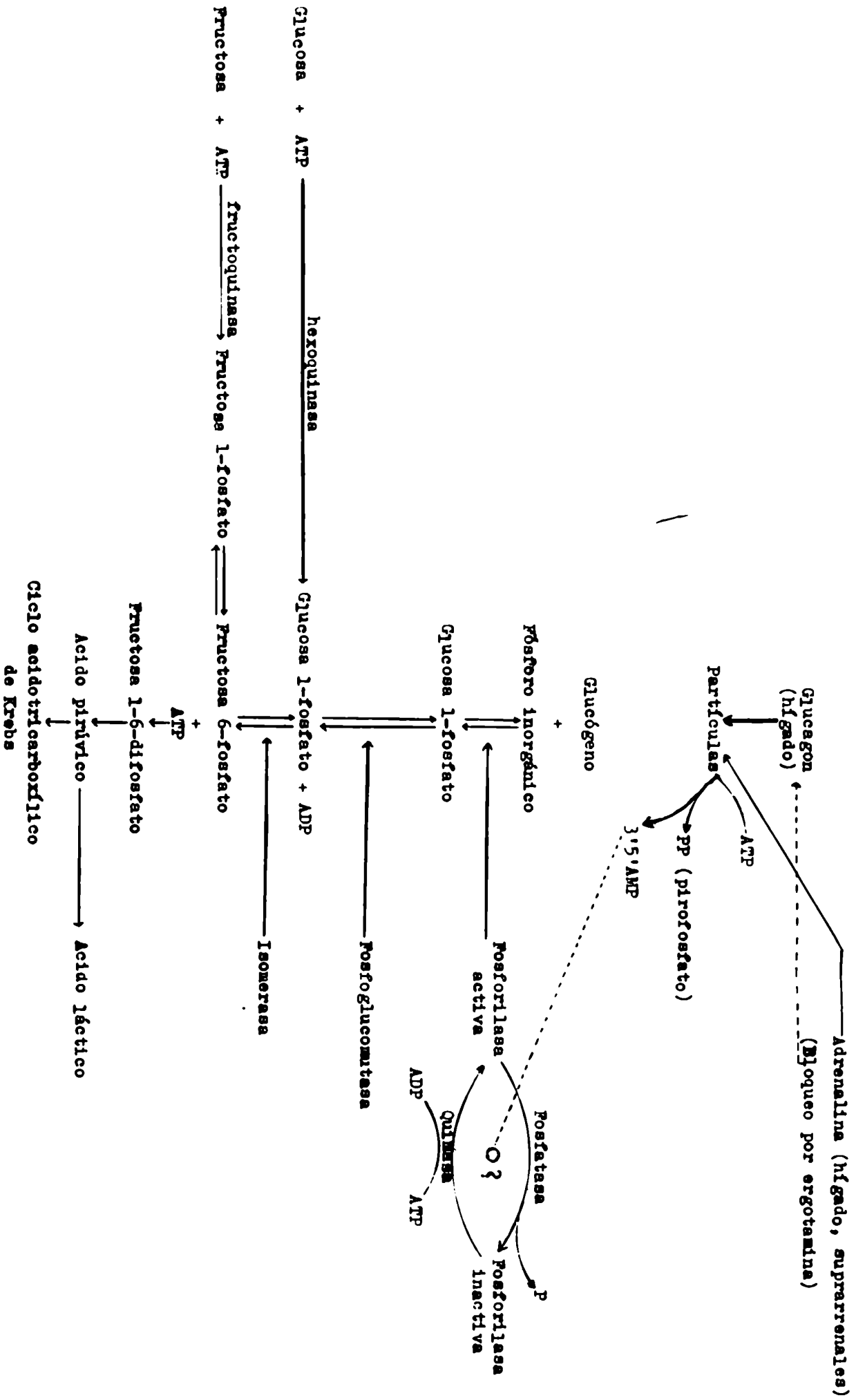


Figura 4

lulas hepáticas aisladas y homogenizadas se ponen en marcha una serie de reacciones: "un componente particular de la célula hepática es estimulado hacia la síntesis de un nucleótido de especial, el 3'5' adenosinmonofosfato (3'5'-AMP), a partir del adenosintrifosfato (ATP). El 3'5'-AMP induce la formación de la fosforilasa activa (o retarda la degradación de la fosforilasa activa) en la fracción soluble del citoplasma y posteriormente desvía el equilibrio dinámico hacia un nivel alto de fosforilasa activa" (5).

En este mecanismo quedan algunos puntos oscuros, como ser, la naturaleza citológica de los "componentes particulares" de la célula hepática, la vía por la cual son estimulados por las hormonas y el mecanismo por el cual actúa el nucleótido en la regulación del sistema de fosforilación. Además, existen dudas de si este mecanismo que se ha demostrado "in vitro", se realiza de la misma manera "in vivo". No obstante, en otros tejidos se llevan a cabo mecanismos similares; así por ejemplo la adrenalina induce a una rápida degradación del glicógeno en el músculo y en el corazón, estos dos tejidos reaccionan frente a la adrenalina formando inicialmente el nucleótido 3'5'-AMP, el cual a su vez produce la reactivación de la fosforilasa. Cosa semejante ocurre en la corteza suprarrenal con el ACTH, donde se ha demostrado que la hormona adrenocorticotrófica induce la reactivación de la fosforilasa con formación previa de 3'5'-AMP (38) (61) (62).

Mientras que los efectos del glucagón sobre el hígado están claros, su acción sobre el músculo es difícil de determinar. A diferencia de la adrenalina, el glucagón

parece no estimular la actividad de la fosforilasa y la glicogenólisis muscular, como está indicado por el hecho de que no produce aumento en el lactato o piruvato sanguíneo (77) (128) (141). No obstante, en presencia de insulina u otros sistemas más complejos como ser el diafragma aislado de rata, puede tener un efecto indirecto. Ogasawa y colab. (113) (115) (116) observaron que el glucagon suprime o inhibe la captación de glucosa por el diafragma de rata, estimulado por la insulina, "in vitro" (114), mientras que otros autores (109) opinan lo contrario. En el glucógeno muscular de los perros pancreatoprivos (102) (125) y en el de los animales normales (138), el glucagon puede inhibir también el efecto de la insulina en la fijación de la glucosa marcada con C^{14} . Otros estudios llevados a cabo sobre los efectos del glucagon en la utilización periférica de la glucosa, llevan a resultados contradictorios: así por ejemplo, se ha dicho a) que el glucagon disminuye la utilización de la glucosa muscular en los conejos (34); b) que el glucagon aumenta la utilización de la misma en sujetos normales y en perros normales y pancreatoprivos (36) (37); c) que el glucagon no tiene efecto importante en la utilización de la glucosa producida por su propia acción (8) y d) que el glucagon no tiene ningún efecto sobre la utilización periférica de la glucosa (2).

Es necesario puntualizar aquí que un aparente incremento en la utilización de la glucosa seguida a la administración de glucagon puede ser debido no al glucagon en sí, sino a otras causas como ser, a) la hiperglucemia concomitante, b) la secreción de insulina por parte del pán-

cross, e) la puesta en libertad de insulina de los tejidos o d) al aborro de insulina por la acción competitiva del glucagon frente a las mismas enzimas degradativas.

Además de estos efectos sobre el glucógeno hepático y su posible acción sobre el glucógeno muscular, el glucagon parece promover la gluconeogénesis en la piel (106), pero no en el tejido adiposo (39).

En cuanto a la vinculación existente, desde el punto de vista funcional, entre el glucagon y la insulina, algunos autores opinan que el mismo no es una "hormona anti-insulina", sino que actuaría más bien en forma sinérgica con la misma, poniendo en libertad la glucosa del hígado y colocándola en condiciones de su utilización periférica (13). Otra manera de explicar los hechos sería; que la aparición de la hiperglucemia alimentaria provocaría una descarga prematura de glucagon e insulina, entonces serían movilizados las reservas hepáticas de glucógeno y la glucosa formada sería almacenada en la periferia, preparando de esta manera al hígado para recibir la nueva glucosa absorbida. Este hecho ha sido puesto de manifiesto por Dwyer y Klotzblicher (12) (14) quienes dicen además, haber encontrado "un agente hiperglucémico" en personas con hiperglucemia alimentaria.

El glucagon parece tener influencia en el metabolismo de los cuerpos cetónicos. Los extractos pancreáticos conteniendo glucagon, administrados a perros diabéticos y a perros y ratas con ayuno prolongado, provocan disminución del contenido de cuerpos cetónicos de la sangre (50) (73);

por otra parte, se ha demostrado "in vitro" que el glucagon incrementa la formación de cuerpos cetónicos en los cortes de hígado (59). Si bien es cierto que los resultados obtenidos "in vivo" e "in vitro" no pueden ser comparados directamente, es necesario que se lleven a cabo nuevas investigaciones que aclaren la cuestión.

Además, se ha probado que el glucagon inhibe la síntesis de los ácidos grasos (6) (7) (59) (60) y del colesterol en el tejido hepático (6).

El glucagon parece estimular la corteza suprarrenal como lo indica el hecho de que su administración produce un descenso en el número de eosinófilos (67) y del ácido ascórbico (27) (28) y un incremento en la excreción de 17-hidroxicorticoides (77). Es posible que todos estos efectos no sean específicos, así por ejemplo Vuytsteke y colab. (141) observan disminución en el número de eosinófilos en la sangre del perro tratado con glucagon e con adrenalina, pero afirman que este acción no es específica de esas sustancias, ya que si se inyecta glucosa endovenosa, se nota de obtener una hiperglucemia similar, se produce también una ligera eosinopenia.

Otro hecho difícil de interpretar es que el glucagon produce descenso del fósforo inorgánico del suero; quizá esta acción esté relacionada con el aumento de la utilización del glucógeno (11) o con un incremento en la excreción del fósforo urinario (134).

Otra propiedad que tiene el glucagon es la de eliminar las contracciones gástricas producidas por el han-

bre, coincidente con el aumento de la glucemia y con el incremento en la diferencia arterio-venosa del azúcar sanguíneo (115).

Podemos concluir diciendo que el glucagon produce hiperglucemia por promover la gluconeogénesis hepática, que ello es debido a una aceleración en la reactivación de la fosfofructilasa hepática y que es producida como consecuencia una disminución primaria de los depósitos de glucógeno, que la hiperglucemia producida por el glucagon es seguida por la puesta en libertad de la insulina y de las hormonas corticoadrenales lo que trae como consecuencia un incremento secundario del glucógeno hepático, y que con necesarias nuevas investigaciones para poner en claro los efectos que tiene sobre el glucógeno muscular, sobre la utilización periférica de la glucosa, sobre el metabolismo de las grasas y cuerpos cetónicos.

Importancia clínica

Hemos mencionado anteriormente en este mismo capítulo, lo sugerido por algunos autores de que la secreción excesiva de glucagon puede desempeñar un papel en la diabetes mellitas. Algunos investigadores (10) (119) dicen haber encontrado una sustancia hiperglucemiante y gluconeogénica en la sangre y orina de las personas diabéticas, pero no en los sujetos normales, otros, en cambio, dicen haber hallado un material similar en la orina de personas normales pero que el mismo sería distinto del glucagon (119). Es posible que tanto la sangre como la orina pueden contener más de un factor, inclusive glucagon o algunos de los productos hasta

severa disminuida de su metabolismo. Esta opina que el pán-
creas de los sujetos diabéticos no contendría más glucagón
que el de las personas normales (119).

Puede ser que el glucagón no sea la causa de la
diabetes, pero es indudable que modifica el cuadro clínico
de la misma. La presencia de glucagón explica no sólo las
diferencias entre los diabéticos por el alcano y aquellos
pancreatoprivos y el requerimiento relativamente pequeño de
insulina de los animales pancreatetectomizados y del hombre,
sino que es posible a través de él establecer las diferen-
cias existentes entre la diabetes estable y la diabetes lé-
bil (78) (101). Así por ejemplo en los diabéticos estables
y en los animales alcanizados parcialmente, la excreción
pequeña de insulina residual puede prevenir la formación de
cetosis, mientras que el glucagón está manteniendo el ni-
vel alto del azúcar sanguíneo; por otra parte, en la diabe-
tes lébil y en los animales pancreatetectomizados totalmente,
estas hormonas faltan por lo que se muestra una marcada ten-
dencia a la cetosis y una relativamente alta sensibilidad a
la insulina. En los diabéticos bajo ciertas condiciones, la
respuesta al glucagón puede servir, como veremos luego, co-
mo una medida indirecta de su sensibilidad a la insulina,
si bien la intensidad de la respuesta puede depender además
del estado nutritivo del paciente y de su contenido en glu-
cígeno hepático, como de la intrínseca diferencia entre las
distintas formas de la enfermedad (71) (102).

Se ha dicho también que existe exceso de secre-
ción de glucagón en el síndrome de Kimmelstein-Wilson, pero

no hay pruebas concluyentes que lo afirmen sin lugar a dudas. (30)

Del mismo modo no existen pruebas confirmatorias de las relaciones entre: a) glucogeno y corcinomas riñonales en células alfa (144); b) glucogeno e hipoglucemia caproglicémica (91) y c) glucogeno y úlceras gastrointestinales (149).

La respuesta al glucogeno ha sido usada como prueba de la función hepática (74) (136) y es una ayuda valiosa en el diagnóstico de las enfermedades del depósito de glucógeno. En estas enfermedades, la glucogenólisis está perturbada por una deficiencia de glucosa-6-fosfatasa (25) y el glucogeno no puede producir hiperglucemia a pesar de que el hígado contiene cantidades normales de fosforilasa, antes bien, produce hipoglucemia (18) (70) (78) (122).

Personalmente hemos utilizado la respuesta al glucogeno, (en la forma que lo presentamos más adelante, en el Capítulo IV, en la enfermedad de Addison (insuficiencia corticoadrenal crónica); la experiencia la hemos realizado en enfermos sin tratamiento y en los mismos luego de haber sido sometidos a la terapéutica específica hormonal, con cortisona, durante períodos que oscilaban entre las varias semanas y 2 años. Hemos observado que los adisonianos sin tratamiento presentaban curvas anormales, como respuesta al glucogeno, mientras que los mismos pacientes tratados adecuadamente modificaban el resultado de la prueba mostrando valores comparables a los obtenidos en las personas normales (98).

Se ha encontrado asimismo (40) que la adminis-

tracción de grandes dosis de glucagon trae como consecuencia un marcado aumento en la excreción de nitrógeno. Parece ser, que el resultado obtenido con dosis de 10 a 25 mg en 10 horas es similar al que se observa cuando se administra cortisona. Observaciones similares obtuvieron Helmer y Kirtley (63) quienes afirman también que durante la administración de dosis elevadas de glucagon se produce un descenso del nitrógeno amoniacal de la sangre tanto en animales normales como en los suprarrenallectomizados.

Se ha demostrado que el glucagon aumenta la excreción renal de las electrolitos incluso el sodio, potasio, cloruros, fosfatos y yodo radiactivo. Parece ser que este efecto es independiente de su acción hiperglucemiante y que estaría vinculado a una acción directa que tendría sobre el túbulo renal (127).

BIBLIOGRAFIA

- 1 - ABRAMS, G. D., BAKER, B. L., INSLE, D. J. y LI, C. H. Endocrinology - 51: 252, (1953).
- 2 - APPEL, W., HANSEN, K. J. y ALSLEV, J. - Acta. End. Scand. Suppl. - 124: 345, (1954).
- 3 - ASTWOOD, E. B. - "The Hypophyseal Growth Hormone, Nature and Actions" - pág. 286. Mc Graw-Hill. Nueva York, (1959).
- 4 - BRANN, A. G., BILLING, B. H. y SHERLOCK, S. - Ciba Collection. Endocrinol. - 6: 290, (1953).

- 5 - BERTHELET, J. - Ann. J. Biol. - 261 703, (1959).
- 6 - BERTHELET, J., JACQUES, P., HERS, H. G. y DE DUVE, G. - Biochim. et Biophys. Acta - 22: 190,
- 7 - BERTHELET, J. - "Radioisotopes in Scientific Research" - Vol. 3, Pág. 179, Paris, (1958).
- 8 - BONDY, P. K. - Isis J. Biol. & Med. - 261 263, (1954).
- 9 - BORNSTEIN, J. - Australian J. Biol. Sci. - 23: 87, (1950)
- 10 - BORNSTEIN, J., REID, E. y YOUNG, P. G. - Nature - 168: 903, (1951).
- 11 - BULBROCK, R. D. y OTTAWAY, J. H. - J. Physiol. (London) 121: 97, (1954).
- 12 - BURSER, H. - Endocrinol. Diag. Ther. - 1: 7, (1950)
- 13 - BURSER, H. - Endocrinol. Diag. Ther. - 1: 1, (1950)
- 14 - BURSER, H. y KLOTZBUCHER, E. - J. Gen. Int. Med. - 2: 43, (1947).
- 15 - CARIL, G.P., ZOTTO, S. y RAHL, A.S. - Endocrinology 52: 265, (1957).
- 16 - CAMPBELL, J. - "The Hypophysial Growth Hormone, Nature and Action" - pag. 270. Mc Graw-Hill. Nueva York, (1955).
- 17 - CARRALHEIRA, A., ELRICK, H., MAC MURKIE, K. R. y BROWNE, J. S. L. - Proc. Exp. Biol. Med. - 81: 15, (1952).
- 18 - CARSON, H.J. y KOCK, R. - J. Endocr. - 47: 161, (1959)
- 19 - CAVALLEIRO, G. - Gine Ginecologia Endocrinol. - 2: 266, (1956).
- 20 - CAVALLEIRO, G. y MALANDRA, B. - Arch. Esp. Biol. Med. 11 - 14: 138, (1958)

- 21 - CAVALLERO, G., MALANDRA, B. y GALANSINO, G. - Environ.
171: 585, (1954).
- 22 - CAVAL, L.A., WULFE, R.K., SPICER, D.S. y BARNES, R.H.
Environ. Res. Publ. Biol. - 74: 8, (1959)
- 23 - COLLINS, W.S. y GRAYKEL, H.C. - Environ. Res. Publ. Biol.
Environ. - 22: 487 (1951).
- 24 - CORI, G.P. - Citado por RAJFAR, V.A. - "Carbohydrate
Metabolism" - Pág. 3. Johns Hopkins
Press. Baltimore, (1952).
- 25 - CORI, G.T. y SCHULMAN, J.L. - Endocrinology - 14: 161,
(1955).
- 26 - CORNELATH, H. - Am. J. Physiol. - 161: 240, (1955).
- 27 - COSTA, R., GALANSINO G. y FOA, P.P. - Environ. Res. Publ.
Biol. Environ. - 51: 308, (1956).
- 28 - COSTA, R., GALANSINO, G., FORSA, G. y FOA, P.P. -
Environ. Res. Publ. Biol. Environ. - 51:
574, (1956).
- 29 - CREUTZFELDER, W. - Environ. Res. Publ. Biol. Environ.
Environ. - 121: 133, (1953).
- 30 - DALL, G.W., EVERSOLE, S.L. y HURDOD, C.C. - Bull.
Johns Hopkins Hosp. - 92: 98, (1952).
- 31 - DE VERANCI, P. - Environ. Res. Publ. Biol. Environ. - 92:
112, (1955).
- 32 - DIXON, G.F., COMFORT, H.V., LITCHMAN, A.L. y HENSON,
R.E. - Arch. Surg. - 52: 619, (1946).
- 33 - BRASSTED, L.R., ALLEN, J.S. y SMITH, R.M. - Environ.
Res. Publ. Biol. - 54: 292, (1943).
- 34 - DRURY, B.R., WICK, A. H. y SHERRILL, J. W. - Diabetes
Ann - 1: 129, (1954)

- 35 - ELLIS, S., ANDERSON, H.L. y COLLINS, H.C. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 84: 383, (1953).
- 36 - ELRICK, H. - Karger - 171: 892, (1956)
- 37 - ELRICK, H., HLAD, G.J., ARAI, Y. y SMITH, A. - J. Clin. Invest. - 35: 757, (1956).
- 38 - HEBERLAND, R. - "Fourth International Congress of Biochemistry" - Pág. 108. Vienna (1958)
- 39 - EISEL, F.L. y SCOTT, J.L. - Endocrinology - 46: 974, (1955).
- 40 - ERIN, G., SALTER, J.H., OBYELO, H.A. y BERT, G. H. - "International Congress on Rheumatic Diseases" - Toronto (1957).
- 41 - FEDELI, S. - Ital. Soc. Med. Chir. Davia - 62: 3, (1955).
- 42 - FEDELI, S., FOTTI, D. y JELMONI, G. - Ital. Soc. Med. Chir. Davia - 62: 4, (1955).
- 43 - FEDELI, S., FOTTI, D. y JELMONI, G. - Ann. intern. Med. e Chir. - 32: 868, (1955).
- 44 - FEDELI, S. y JELMONI, G. - Italia Endocrinol. (Fisc) - 2: 239, (1955).
- 45 - FERNER, H. - "Das Involutions des Pankreas" - Thieme. Stuttgart, (1952).
- 46 - FOA, P.P. - Chicago Med. School Quart. - 14: 145, (1953).
- 47 - FOA, P.P. - Advances in Internal Med. - 6: 29, (1954)
- 48 - FOA, P.P., SANTAMARIA, L., HENNER, S., SMITH, J.A. y WEINSTEIN, H.R. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 82: 635, (1952).
- 49 - FOA, P.P., MASID, E.B., GLASSMAN, H.D. y WEINSTEIN, H. R. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 84:

- 798, (1951).
- 50 - FOA, P.P. y WEINSTEIN, H.R. - Endocrinology - 20: 43, (1951).
- 51 - FOA, P.P., WEINSTEIN, H.R. y SMITH, J.A. - Am. J. Physiol. - 151: 197, (1949).
- 52 - FORDEN, J.F. y HEAR, W.O. - Endocrinology - 54: 303, (1954).
- 53 - FORDEN, J.F. y HEAR, W.O. - Am. J. Physiol. - 182: 913, (1955).
- 54 - GALANSINO, G., WEINSTEIN, H.R., MASILL, A.M. y FOA, P. - Am. J. Physiol. - 182: 27, (1955).
- 55 - GASTON, E.A. - Exp. Biol. J. Med. - 211: 345, (1948).
- 56 - GOLDNER, H. y GLANK, D.R. - J. Clin. Endocrin. - 4: 194, (1944).
- 57 - GOLDNER, H. y VOLK, B.V. - Ciba Collection Endocrinol. 2: 75, (1956).
- 58 - HADJIMANN, V. - Endocr. Metabol. Syst. u. allgem. Pathol. 11: 121, (1953).
- 59 - HAUGAARD, E.S. y HAUGAARD, H. - J. Biol. Chem. - 224: 641, (1954).
- 60 - HAUGAARD, E.S. y STADIE, W.C. - J. Biol. Chem. 200: 753 (1953).
- 61 - HAYNES, R.G. - J. Biol. Chem. - 211: 1220, (1958).
- 62 - HAYNES, R.G. y BURNETT, J. - J. Biol. Chem. - 221: 115, (1957).
- 63 - HEILNER, O.M., KIRKLEY, W.R. y RIDOLFO, A.S. (en prensa)
- 64 - HEILNER, O.M. y ROOF, M.A. - Endocrinology - 54: 338, (1954).
- 65 - HELLANT, H. - Ann. endocrinol. (Paris) - 16: 408,

(1955).

- 66 - NESS, W. - Schweiz. Z. Pathol. u. Bakteriolog. - 2: 46, (1946).
- 67 - HOLT, G. - Z. Vitamin. Hormon. u. Immunbiolog. - 1: 138, (1955).
- 68 - HOLT, G., HOLT, L., KROHNER, B. y KUHMAN, J. - Ernahr.-Schweizer's Arch. experim. Pathol. Pharmacol. - 22: 78, (1955)
- 69 - HOLT, G., HOLT, L., KROHNER, B. y KUHMAN, J. - Oliva Callonina Endocrinol. - 2: 14, (1956).
- 70 - HUBBLE, D. - Lancet - 266: 235, (1954).
- 71 - HUBBLE, D. - Diabetes - 4: 197, (1956).
- 72 - INSLE, D.J., KEARY, D.F. y FURNALLS, A. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 21: 432, (1954).
- 73 - KALANT, H. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 86: 617, (1954).
- 74 - KENNY, A.S. - J. Clin. Endocrinol. & Metabolism - 15: 1089, (1955).
- 75 - KIEHLER, R., WENZ, E.R., ENGEL, F.L. y NIKES, J.B. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 82: 446, (1955).
- 76 - KINSELL, L. W., BALCH, H.E. y MICHAELS, G.D. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 81: 683, (1953).
- 77 - KIRKLEY, W.R., WAIFE, S.O., KEISER, O.H. y PECK, F.B. - Diabetes - 2: 345, (1953).
- 78 - KIRKLEY, W.R., WAIFE, S.O. y PECK, F.B. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 81: 387, (1953).
- 79 - KLOTZBUCHER, E. - J. gen. int. Med. - 8: 126, (1953).
- 80 - KOPF, W. y LE COMPTE, P.H. - Diabetes - 4: 347, (1955).
- 81 - KRACHT, J. - Ernahrwissenschaften - 42: 607, (1953).

- 82 - KURTZ, H., DE BODO, R.G., KIANB, S.P. y ANCOVITZ, A.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 76: 21,
(1951).
- 83 - LONS, C.H.H. - Ciba Collection International. - 41: 295,
(1952).
- 84 - LONS, C.H.H. - Ciba Collection International. - 6: 136,
(1951).
- 85 - LOUBE, S.D., CAMPBELL, R.D. y KIRBY, I.A. - Proc.
Soc. Exptl. Biol. Med. - 75: 161,
(1950).
- 86 - MACRAE, W.D. y SHEDDEN, J.C. - Diabetes - 2: 443,
(1953).
- 87 - MALANDRA, B. y BOCCA, L. - Ann. Internat. Clin.
Exper. - 24: 43, (1952)
- 88 - MANNAN, H. H., MANNAN, R.S. y SUTHERLAND, R.W. - J.
Diab. Res. - 211: 894, (1950).
- 89 - MANKS, H.P. y YOUNG, P.C. - J. Endocrinol. - 1: 470,
(1939).
- 90 - MAYER, J., ANDRUS, S.B. y SILBER, D.J. - Endocrinol.
Proc. - 51: 572, (1953).
- 91 - McQUARRIE, T. - Am. J. Diseases Children - 81: 399,
(1954).
- 92 - MILMAN, A.E., DE MOOR, P. y LUKENS, F.D.W. - Ann.
J. Exptl. - 166: 354, (1951).
- 93 - MILMAN, A. y RUSSELL, J.A. - Endocrinology - 47:
114, (1950).
- 94 - KIRBY, I.A., FUTTERMAN, P., WACHMAN, J. y PERISUTTI,
G. - Endocrinology - 49: 73, (1951).
- 95 - MORGAN, H.S. y FILSHIE, F.G. - Proc. Soc. Exptl. Biol.

- Med. - 12: 106, (1952).
- 96 - NOYA, P., SKERB, J. C. y MACINTOSH, N. - Ann. J. Diabet.
Diabetol. - 14: 563, (1956).
- 97 - NARAHARA, H. T., OOK, R. W., HENLEY, E.D. y WILLIAMS,
R.H. - J. Clin. Endocrinol. - 16: 935,
(1956).
- 98 - NUSIMOVICH, B., ROSNER, J., CAMPASOLI, M. y PIERAN-
GELI, M.R. - "Trabajo presentado en la
Soc. Arg. de Diabetes" - Julio de 1959
(en prensa).
- 99 - PENNOS, J.C. - Diagn. e Investigacion - 10: 305, (1954)
- 100 - PINCUS, I.J. - J. Clin. Endocrinol. - 10: 596, (1950)
- 101 - PINCUS, I.J. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 74: 377,
(1950).
- 102 - PINCUS, I. J., GRICE, M.S., DUNN, H. y HUTMAN, J. S.
Am. J. Diabetol. - 10: 413, (1955).
- 103 - RABEN, H.S. - "The Hypophysial Growth Hormone, Nature
and Actions" - Pág. 454. MacGraw-Hill.
New York (1955).
- 104 - RABEN, H. - Recent. Progr. Hormone Research. - 1:
471, (1953).
- 105 - RAJARAMA RAO, M.R. y ER, N. N. - Acta Endocrinol. -
18: 293, (1955).
- 106 - RAJARAMA RAO, M.R. y ER, N. N. - Acta Endocrinol. -
18: 299, (1955).
- 107 - RALL, F.W., SUTHERLAND, E.W. y BERTHELT, J. - J. Biol.
Chem. - 224: 463, (1957).
- 108 - RALL, F.W., SUTHERLAND, E.W. y WOSILAIT, W.D. - J.
Biol. Chem. - 218: 483, (1956).

- 109 - RANDLE, P.J. - Ciba Collection International. - 2: 195, (1956).
- 110 - RICKETS, J. T., BRUNSCHWIG, A. y KNOWLTON, K. - Am. J. Med. - 1: 229, (1946).
- 111 - RODRIGUES GAMBELA, J. B. - Rev. clin. cirurgia - 12: 393, (1945).
- 112 - RODRIGUES GAMBELA, J. L. - J. Clin. Endocrinol. - 12: 245, (1952).
- 113 - RODRIGUES GAMBELA, J. L. - Colloquia on Endocrinology, Ciba Found. - 6: 233, (1953).
- 114 - RODRIGUES GAMBELA, J. L. y RODRIGUES GAMBELA, R. - Colloquia on Endocrinology, Ciba Found. - 2: 194, (1956).
- 115 - RODRIGUES GAMBELA, J.L., TAMARIT, J., RODRIGUES GAMBELA, R. y CHRISTENSEN KONIG, W. - Arch. Med. Sci. - 14: 21, (1951)
- 116 - RODRIGUES GAMBELA, J. B., TAMARIT, J., RODRIGUES GAMBELA, R. y CHRISTENSEN KONIG, W. - Arch. Med. Sci. - 15: 91, (1952).
- 117 - ROOT, M.A. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 81: 100, (1954).
- 118 - ROOT, M.A., ELLIS, J. y STAUB, A. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 85: 507, (1954).
- 119 - SAKA, H.O. - Am. J. Physiol. - 171: 401, (1952).
- 120 - SALTER, J. y BEST, C.H. - Brit. Med. J. - 2: 353,
- 121 - SALTER, J.M., DAVIDSON, I. W. F. y BEST, C. H. - Endocrinol. Soc. Proc. - 15: 160, (1954)
- 122 - SCHULMAN, J. L. y SATCHEL, P. - Endocrinol. - 14: 632, (1954).
- 123 - SHULL, K. H., AMESON, J. y HAYER, J. - Arch. Biochem.

- & *Biophys.* - 62: 210, (1956).
- 124 - SIKK, G.V. y BEST, G. H. - Am. J. Physiol. - 121: 597, (1956).
- 125 - SNEDECOR, J. G., DE NISO, R.H. y FIGUEROA, I. J. - Prog. Exp. Biol. Med. Sci. - 22: 396, (1955)
- 126 - SNEDECOR, J.G., MATHEWS, H. y MACGRATH, W.D. - Environ. Sci. - 12: 355, (1956).
- 127 - STAUB, A., SPRINGS, V., STOLL, F. y ELRICK, H. - Prog. Exp. Biol. Med. Sci. - 24: 97, (1957)
- 128 - SUTHERLAND, E. W. - Recent. Progress. Hormone Res. - 5: 441, (1950).
- 129 - SUTHERLAND, E. W. - Ann. N. Y. Acad. Sci. - 34: 691, (1951).
- 130 - SUTHERLAND, E. W. - Citado en HAJJAN, V. A. - "Carbohydrate Metabolism" - Pág. 14. Johns Hopkins Press, Baltimore, (1952).
- 131 - SUTHERLAND, E. W. y RALL, T. W. - J. Biol. Chem. - 212: 1077, (1955).
- 132 - SUTHERLAND, E. W. y WOSILAIT, W. D. - J. Biol. Chem. - 212: 459, (1956).
- 133 - SUTHERLAND, E. W., WOSILAIT, W. D. y RALL, T. W. - Giba Colloquia Industrial. - 2: 179, (1956).
- 134 - STAUB, A., SPRINGS, V. y ELRICK, H. - Endocrinol. Prog. - 15: 201, (1956).
- 135 - STUNKARD, A. J., VAN ITALLIE, T. B. y REIS, B.D. - Prog. Exp. Biol. Med. Sci. - 22: 252, (1955).
- 136 - THOROSOOD, E. y SIMONMANN, B. - Endocrinology. - 17: 191, (1949).

- 137 - TOMISAWA, H. H., TYBIRSHEN, J. H., HALSEY, T. B. y WILLIAMS, R. H. - Endocrinol. Prog. - 15: 534, (1956).
- 138 - TYBIRSHEN, J. - Arch. Int. Med. - 62: 113, (1952)
- 139 - TYBIRSHEN, J. - y WILLIAMS, R. H. - Metabolism - 7: 635, (1958).
- 140 - VERNE, J., BOULIN, R. y GUENIOT, M. - "2^o Intern. Congr. Intern. Diabetes Fed." Cambridge, (1955).
- 141 - VUILSTEKE, G.A., DE DUVE, G. y FIS, A. - Arch. Int. Med. - 27: 445, (1950).
- 142 - WAIFE, S. O. - Illinois Med. J. - 107: 81, (1955)
- 143 - WEIL, R. - Arch. Internal Med. - 95: 739, (1955).
- 144 - WEINBERG, M. F. y SCHAEFER, G. L. - Am. J. Clin. Pathol. - 22: 1169, (1952).
- 145 - WOLFSCH, S. K. y ELLIS, S. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 51: 226, (1956).
- 146 - WOSILAYT, W. D. - J. Biol. Chem. - 211: 997, (1956)
- 147 - WOSILAYT, W.D. y SUTHERLAND, R. W. - J. Biol. Chem. - 218: 469, (1956).
- 148 - YOUNG, F. G. - Recent Progr. Hormone Res. - 2: 471, (1955)
- 149 - ZOLLINGER, R. H. y KELLICH, R. H. - Ann. Surg. - 142: 709, (1955).

CAPITULO IV

Experiencias realizadas con insulina libre de glucagon y con glucagon libre de insulina. Introducción.

Revisión de las pruebas de "tolerancia a la insulina" efectuadas con insulina común. La prueba de la insulina libre de glucagon. Resultados experimentales y curvas. La prueba del glucagon libre de insulina. Resultados experimentales y curvas. Conclusiones finales. Bibliografía.

Introducción.

En la parte experimental de este trabajo nos proponemos estudiar los efectos de la administración endovenosa de insulina libre de glucagon y de glucagon libre de insulina en personas normales y en pacientes con deficiencias metabólicas. Tanto la insulina libre de glucagon como el glucagon puros nos fué gentilmente suministrados por una deferencia especial del Dr. W. R. Kirtley de los Laboratorios E. Lilly & Co. de Indianapolis, EE.UU., a quien expresamos nuestro agradecimiento.

Se utilizaron en este trabajo pacientes seleccionados entre los internados en el Instituto Nacional de la Nutrición y que eran enfermos con trastornos metabólicos: diabéticos, adíscenianos, obesos, hipoglucémicos, etc., y algunos voluntarios "normales"; estas últimas siguieron un régimen fijo y normal (7) durante 2 o 3 días antes de la prueba y en cuanto a los primeros siguieron con el régimen alimenticio habitual para cada uno. En todos los casos en la mañana de la prueba los pacientes no recibieron insulina

u otros medicamentos y estaban en condiciones basales (ayuno, reposo, etc.).

En las muestras de sangre extraídas durante el transcurso de las pruebas determinamos la "glucosa verdadera" empleando para ello, en algunos casos, la técnica de Hagerán - Jansen (11) y en otros la de Folin y Wu (8), modificada según Semogyi en la obtención del filtrado libre de proteínas, y que consiste en defecar la sangre con sulfato de zinc al 10 % e hidróxido de sodio 0,5 N; al filtrado libre de proteínas se agrega primero la solución cuprotátrica-alcalina y luego de 6 minutos de baño maría hirviente, la solución fosfotúngstico-molibdeno; se lleva a un volumen fijo con agua destilada y se compara el color obtenido en un fotocolorímetro frente a una solución de glucosa tipo tratada en las mismas condiciones.

Los resultados obtenidos fueron tabulados en las tablas N° 5 y 6; las mismas están confeccionadas en forma tal que en la primera fila se consignan los valores absolutos de las glucemias en mg % ml de sangre obtenidos en el transcurso de la prueba en la segunda las diferencias absolutas entre los valores a los distintos tiempos y el valor inicial y en la última el porcentaje de esas diferencias.

Las curvas experimentales fueron trazadas teniendo en cuenta estas últimas valores, forma esta que permite la comparación de las distintas curvas independientemente del valor inicial en ayunas. En el trazo de las curvas, el valor cero está dado por el valor inicial de la glucemia. Así por ejemplo en el caso que la glucemia decrezca de 120

a 80 mg % ml de sangre, diremos que el descenso fué del 33%, e si en otro caso la glucemia ascendió de 80 a 120 mg % ml de sangre, diremos que el aumento fué del 50 %.

Revisión de las pruebas de tolerancia a la insulina efectuadas con insulina común.--

La prueba de "tolerancia a la insulina" es una de las más empleadas para estudiar la fisiopatología del metabolismo glicídico. La misma puede realizarse, en líneas generales, de dos maneras:

- 1) empleando insulina sola, y
- 2) empleando insulina y glucosa.

La primera puede a su vez efectuarse inyectando la insulina: a) por vía subcutánea y b) por vía endovenosa. La prueba realizada por vía subcutánea tiene una serie de ventajas, la principal de todas radica en las variaciones -- que sufre la insulina en su absorción, de un caso a otro, por lo que se la está dejando de usar, salvo en los casos de imposibilidad de emplear en forma práctica la vía venosa (niños pequeños, obesos, etc.).

La prueba realizada con insulina común por vía endovenosa, fué estudiada en principio por Lyman y colab. en 1923 (20) y posteriormente la misma sufrió sucesivas modificaciones, permitiendo, en manos de diversos investigadores (9) (12) (23), la obtención de muy importantes datos en relación con el conocimiento de los detalles del metabolismo hidrocabonado.

Las curvas de glucemia resultantes de la inyec-

ción endovenosa de insulina muestra dos partes características: a) un segmento descendente que se llama "línea de asimilación", cuya primera parte es variable y que en ciertos casos puede ser horizontal y aún ascendente, lo cual puede atribuirse, como hemos visto, a la influencia inmediata del glucosa presente, cuando se realizan las pruebas con insulinas que lo contienen. Esta línea descendente no es recta sino -- quebrada y alcanza su máximo inferior a los 25-30 minutos de la administración de insulina. Cuando en lugar de la vía endovenosa se utiliza la subcutánea, tanto la iniciación como el punto de máximo descenso se prolongan considerablemente, pudiendo ocurrir en momentos variables, que dificultan su utilización diagnóstica. Sin embargo en ciertos animales, según Macleod los efectos por ambas vías serían muy similares (21).

b) A partir de los 25-30 minutos de la inyección, una vez alcanzado el punto de máximo descenso, el sentido de la curva se invierte y se hace ascendente, designándose esta parte como "línea de recuperación", la cual está a su vez -- constituida por dos segmentos: el primero, de ascenso rápido, seguido de otro de ascenso más lento, alcanzándose finalmente alrededor de la hora, valores comparables a los iniciales.

No todos los autores están de acuerdo con respecto a la magnitud del descenso normal, lo que se explica a nuestro criterio, en primer lugar, por las diferencias en las insulinas utilizadas y en segundo término porque muchos de los sujetos considerados como normales son en realidad hipoglucémicos, muy sensibles a la insulina, en quienes se producen en consecuencia valores anormalmente bajos.

Las pruebas de tolerancia realizadas con insulina y glucosa pueden a su vez realizarse de dos maneras:

- a) con insulina endovenosa y glucosa por vía oral (12), o
- b) con insulina y glucosa administrados por vía endovenosa (9) (18).

En este último caso la curva normal es más o menos rectilínea, neutralizándose mutuamente ambas sustancias inyectadas. La administración conjunta de insulina y glucosa obedece, según Hinworth, al propósito de evitar la puesta en marcha de los "mecanismos" de contrarregulación, que comienzan a actuar tan pronto como la glucemia desciende de los límites fisiológicos para cada individuo.

Recordando dichos hechos que han sido varias las modificaciones que se han llevado a cabo a fin de superar ciertos inconvenientes intrínsecos de la prueba y que todavía no se ha logrado por completo. Creemos que la principal desventaja consiste en que por lo general no se trabaja con un material puro, dado que algunas insulinas corrientes, en efecto, están contaminadas con cantidades variables de glucagon, de manera que con ellas no es posible saber, sobre todo en la zona inicial de la curva, que parte se debe al efecto de la insulina y cual al glucagon, haciendo imposible la comparación de los resultados.

Estos hechos nos movieron a estudiar la prueba empleando para ello, insulina libre de glucagon y observar los resultados obtenidos en los distintos casos.

La prueba de tolerancia con insulina libre de glucagon

Recientemente, Anderson y colab. (1) (2) (3) (4) han estudiado con fines experimentales, la insulina libre de zinc. Esta insulina tiene la ventaja de su pureza y es utilizada en dosis muy pequeñas (unas 3 unidades por día) en comparación con las cantidades relativamente grandes empleadas con otras insulinas (10 0 más unidades) en las técnicas citadas anteriormente.

En nuestra experiencia hemos tratado de reproducir los trabajos de Anderson y colab. empleando siempre la misma clase de insulina, pero modificando la técnica de dichos autores y utilizando la prueba no sólo en el estudio de los diabéticos sino también de otros pacientes con deficiencias metabólicas.

La prueba llevada a cabo por nosotros puede esquematizarse de la siguiente manera:

- a) Al paciente, en ayuno y reposo, se le extrae sangre para determinar en ella la glucosa.
- b) Inmediatamente después se le administran 3 unidades de insulina libre de zinc por vía endovenosa. Hemos podido comprobar, en experiencias previas, que no era necesario dosificar la insulina en relación al peso del paciente, pues su acción no depende de este como del estado fisiopatológico del individuo; por lo cual hemos empleado siempre una dosis fija de 3 unidades. En cuanto a la exactitud de esta dosis se explica, como dijimos anteriormente, por la gran actividad resultante de su pureza.
- c) Se extrae sangre nuevamente a los 5, 15, 30, 45 y 60 mi-

antes de haber administrado la insulina, permaneciendo mientras tanto el paciente en reposo; en todas las muestras se determina la glucosa.

Nunca dejado de lado la técnica que consisten en mantener un "gota a gota" en la vena del paciente con el objeto de evitar las punciones repetidas y su posible efecto sobre la glucemia, pues la experiencia nos demostró que los resultados eran concordantes en ambas cosas.

En nuestro estudio de los 47 casos seleccionados 20 eran diabéticos, 22 padecían de distintas afecciones agudas o crónicas que creíamos de interés estudiar y los 5 restantes eran sujetos sanos, sin aparentes trastornos metabólicos, que fueron considerados como "normales".

Los casos 1 al 5, o sea aquellos sujetos considerados como normales, mostraron un descenso de la glucemia de alrededor del 30% en los primeros 5 minutos de iniciada la prueba, registrándose el máximo descenso entre 15 y 30 minutos. En ellos la curva de recuperación asciende hasta alcanzar aproximadamente el valor inicial alrededor de los 60 minutos. El hecho de que en estos casos la curva de asimilación dure 30 minutos, no se debe por supuesto, a que transcurrido ese lapso de tiempo se "agote" el efecto de la insulina inyectada, sino más bien debe atribuirse a los mecanismos homeostáticos constituidos por la actividad gluconeogénica del hígado y los factores periféricos antagonistas de la acción de la insulina: hipófisis, suprarrenal, tiroidea, etc. Es sabido que cuando se descartan estos últimos mecanismos, ya sea mediante la inyección continua de glucosa o mediante la eliminación de dichos factores peri-

féricas, la actividad de la insulina por vía endovenosa, en dosis de 10 a 15 unidades se extendería a unas 6 o 7 horas. Es posible que la dosis de 3 unidades, empleada por nosotros, actúe menos tiempo, aunque de cualquier manera debe recordarse que la duración de la actividad de la insulina no es directamente proporcional a la cuantía de la dosis y depende en cambio, del estado fisiopatológico del organismo al cual se inyecta.

La acción antagónica de los esteroides corticosos dependería principalmente de su poder glucogenolítico (19) y en cambio la del factor hiperglucemiante de la hipófisis (hormona somatotrófica) se ejercería inhibiendo la utilización periférica de la glucosa (24).

De los trabajos de Volk y colab. (10) (26) (27), parecería deducirse que las células alfa de los islotes del páncreas, productoras del glucagón, intervienen muy poco en la fase de recuperación consecutiva a la hipoglucemia insulínica. En cambio, la intervención hepática sería fundamental y dependería del estado de repleción de los depósitos de glicógeno en dicho órgano (en relación si estos últimos con la actividad de las células productoras de glucagón).

Si bien la tiroidea figura entre las glándulas antagónicas de la insulina, en actividad en el transcurso de la prueba que estamos comentando, no surge de manera inequívoca, por lo que los resultados obtenidos hasta el momento, por los diversos autores, se prestan a interpretaciones contradictorias.

Por lo que respecta a la participación del sis-

toma nervioso, en las experiencias de Lazarus y Volk, tanto en animales simpatectomizados como en los tratados con agentes de bloque gangliolar, obtuvieron una respuesta normal a la acción de la insulina. Bestie (5) observó ausencia completa de respuesta a la inyección endovenosa de insulina, en ratos a las que había extirpado la médula suprarrenal y les había seccionado al mismo tiempo las vías nerviosas de comunicación entre el hipotálamo y el tronco cerebral. En cambio, la respuesta fue normal en los animales en quienes practicó una sola de dichas intervenciones. Dicho autor dedujo de sus observaciones que "la falta de respuesta que muestran los primeros animales es debida a la presencia en ellos de un antagonista de la insulina".

Hemos notado asimismo que en algunas diabéticas, la respuesta es semejante a los casos normales (casos 6 y 7) y que ella es inmediata y alrededor del 30% y que el máximo descenso se observa en los mismos tiempos que en los anteriores y la recuperación es similar. Para estos casos de diabéticos normalmente sensibles a la insulina valen las mismas consideraciones que para los sujetos normales.

Algunos casos estudiados (8 a 13) mostraron una sensibilidad semejante a los anteriormente citados, en los primeros minutos de la prueba, pero en la fase de recuperación se notaron disturbios respecto de aquellos; evidentemente estos casos padecían de diversas alteraciones agudas o crónicas, a las que atribuimos dichas alteraciones (obesos, decastrados, diabetes y embarazo, etc.).

Otros pacientes mostraron ser hipersensibles a la insulina, en ellos la respuesta fue inmediata y mucho

más intensa que en los casos anteriores, observándose algunos descensos de la glucemia superiores al 50% de la cifra inicial.

Los descensos obtenidos en estos pacientes indicarían ausencia o escasez extrema de insulina endógena (diabetes pancreática propiamente dicha) con escasa participación de las resistencias periféricas y gran sensibilidad a la insulina endógena (casos 14 a 18).

Esta labilidad la hemos estado en personas no diabéticas que presentaban signos de hipoglucemia no por insulínismo, sino por perturbaciones de los mecanismos de homeostasis que mantiene la glucemia normal; hepáticas, Addisonianas, insuficientes hipofisarias, hipotiroideas, aneurísticas y en sujetos con aceleración del tránsito intestinal o distonías neurovegetativas, etc. (casos 19 a 22).

En varias veces (23 a 26) hemos estado que la sensibilidad a la insulina no se producía inmediatamente, sino al cabo de varios minutos, observándose en algunas fuertes reacciones hipoglucémicas. Este fenómeno lo hemos podido comprobar en personas sanas caso diabéticas y no hemos conseguido hasta el momento una explicación satisfactoria e inobjetable del mismo. La existencia de estos casos fue observada en nuestras experiencias preliminares y ello nos indujo a prolongar sistemáticamente a 60 minutos la duración de la prueba en contraposición a lo sostenido por Anderson (1) -- (22), quién a los 6 minutos de haber inyectado la insulina libre de glucagon ya por finalizada la misma.

Algunos de estas personas eran glicémos o po-

rientes de diabéticos a quienes habría que clasificar según Anderson como "candidatos a la diabetes", pero que difícilmente se les podría considerar como tales y menos aún "resistentes a la insulina", ya que respondieron (aunque en forma tardía) con una intensa hipoglucemia (casos 29 a 32).

También hemos observado este tipo de reacción tardía en pacientes con síntomas clínicos aparentes de hipoglucemia, aunque con cifras de glucemia en ayunas apenas subnormales (casos 33 a 35). Un caso muy característico (el 36) fue un adolecente que tenía una glucemia en ayunas de 76 mg por 100 ml, que no disminuyó en lo más mínimo en los primeros minutos de la prueba, aunque sí lo hizo después hasta un valor de 27 mg por cien ml, acompañándose con los síntomas clínicos de la hipoglucemia. Sin embargo en otro paciente (caso 37) en quien se comprobó al cabo de 30 minutos de haber inyectado la insulina, la inusitada cifra de 17 mg ml, se notaron ocultos síntomas de hipoglucemia lo que induciría a pensar que en estos sujetos se establece, por algún mecanismo no bien conocido, una tolerancia a la hipoglucemia. Fundamos que al parecer debe repetirse en ellos con frecuencia.

Por último mencionaremos un tipo especial ~~de~~ no sensible a la insulina o insulina resistente; en ellos la glucemia disminuye muy poco como consecuencia de la inyección endovenosa de insulina, pudiendo también ocurrir que no disminuya. En estos casos existe una intensa participación de los mecanismos periféricos hiperglucemiantes (tiroides, hipófisis, suprarrenales, células alfa, sistema nervioso, etc.). Esta resistencia a la insulina la hemos notado: en diabéticos obesos, postmenopáusicos o que emetían

transgresiones al régimen (casos 38 al 42).

Hemos observado además este tipo de resistencia en individuos no diabéticos, que presentaban el cuadro clínico de la hipoglucemia por hiperinsulinismo (casos 43 y 44); en ellos cabría pensar en un aumento funcional u orgánico de la insulina endógena, que hace que el organismo no responda a la introducción de cantidades adicionales de la hormona.

Mencionaremos por último tres casos (45 a 47) que no eran diabéticos (con prueba de hiperglucemia diagnóstica negativa) y que mostraron en la prueba que estamos comentando una respuesta de difícil clasificación ya que en ellos se observa poco descenso en los primeros minutos con recuperación prácticamente total a la hora de inyectado la hormona.-

La prueba del glucagon libre de insulina.

El primero que usó el glucagon en humanos, con fines experimentales fué Kirtley (14) (15) estudiando las modificaciones que sufrían la glucosa, el fósforo inorgánico, el piruvato, el lactato y el potasio sanguíneos en personas normales y diabéticas.

Posteriormente Hubble (13) estudió la acción del glucagon sobre el azúcar sanguíneo en relación con las pruebas de tolerancia a la insulina-glucosa, a la insulina, a la glucosa y a la adrenalina.

Nosotros hemos retomado en parte los trabajos de Kirtley, administrando el glucagon por vía endovenosa y

de una sola vez y no por infusión continua, como lo hacía el otro autor, ya que hemos comprobado en experiencias previas, que esta forma de actuar no modifica los valores de la glucemia obtenidos y es de más práctica realización.

La droga utilizada en esta experiencia tenía las siguientes especificaciones dadas por los Laboratorios de origen:

Lot: N° 208-158 B. 197

Forma: amorfo

Pureza: Aproximadamente 50% (basada en la potencia del glucagon cristalizado).

Actividad biológica: 0,2 mg de la droga por kilogramo de peso, inyectada en forma endovenosa y en ayunas a gatos anestesiados, produce un aumento de la glucemia de 30 a 40 mg %, 10 a 15 minutos después de la inyección.

Contenido en insulina: Entre 0,005 y 0,05 unidades por mg. de glucagon.

Reacción isoelectrónica: pH 7,5 - 8,5

Solubilidad: La solubilidad del glucagon es relativamente baja entre pH 3 y 9, particularmente en presencia de electrolitos. Se recomienda disolver este principio en agua, ajustando el pH entre 8,5 y 9,0 o en una solución buffer de aminoácidos de igual pH. Esta droga tiende a formar fibrillas insolubles en soluciones ácidas, especialmente cuando el pH baja de 4.

Estabilidad: Las soluciones acuosas, como las preparadas con

buffer de glicina (Aproximadamente al 0,02 %) a los pH indicados, con estabiles de 2 a 4 semanas, conservadas en refrigerador.

Recetres empiecen como líquido de dilución buffer de glicina de pH 8,8, preparada de la siguiente manera:

Reactivos necesarios:

- a) Hidróxido de sodio 0,1 N libre de anhídrido carbónico.
(Esta solución se prepara a partir de una solución 1 N de OHNa)
- b) Cloruro de sodio p.a.
- c) Glicocola según Sorenson

Solución "E":

Glicocola	7,505 g
Cloruro de sodio	5,870 g
Agua destilada, c.s.p.	1000 ml

Mecilar en el momento 90 ml de la solución "E" con 1 ml de la solución de hidróxido de sodio 0,1 N.

La solución de glucogen al 0,02 % envasada en ampollas herméticamente cerradas, fué esterilizada según Kirtley (16) en autoclave a 105°C, durante 15 horas.

Empiecen en la prueba del glucogen una técnica propuesta por nosotros y que consiste en lo siguiente:

- 1°) Se pesa al paciente.
- 2°) Se le extrae sangre en ayunas para determinar en ella la glucosa.
- 3°) Se le administran, por vía endovenosa y de una sola vez, 20 unidades gato de glucogen, por kilogramo de

- peso. La dosificación de la droga inyectada se hizo en base a las recomendaciones sugeridas por Kirtley (17) quién aconseja administrar 20 unidades gate por Kg de peso actual del paciente. La unidad gate se define como la cantidad de glucagon que administrada por vía endovenosa a gatos normales en ayunas y anestesiados, produce un aumento de la glucemia de 30 mg por 100 ml, sobre el valor en ayunas, a los 10 - 15 minutos de la inyección.
- 4°) Se extrae nuevamente sangre a los 10, 20, 30, 60, 90 y 120 minutos de haber sido inyectado el glucagon, determinando en cada una de las muestras obtenidas el valor de la glucosa. Las determinaciones se realizaron empleando las mismas técnicas usadas en la prueba de la insulina libre de glucagon.

De acuerdo a lo aconsejado en las especificaciones utilizamos la droga en solución al 0,02 %; en nuestro caso empleando glucagon suerfo cuya potencia biológica era de 0,0002 mg/Kg de peso (una unidad gate) y considerando que administraríamos 20 unidades por Kg de peso, calculamos el volumen en ml de la solución a inyectar, aplicando en cada caso la fórmula siguiente:

$$\text{ml a inyectar} = 0,004 \times V \times P$$

en donde P es el peso actual de paciente en kilogramos, V el volumen en ml de solución que contiene 1 mg de glucagon y el factor 0,004 es el que resulta de multiplicar el número de unidades por kilogramo que se desea inyectar (en nuestro caso 20), por la potencia biológica en mg, de la sustancia a inyectar. Así por ejemplo, para una persona de 70 Kg a quién deseamos inyectar 20 unidades por Kg de peso, se tíg

no: $0,004 \times 5 \times 70 = 1,4$ ml de la solución al 0,02 %.

Hemos seleccionado los casos en base a su historia clínica, debido a que no disponíamos de droga suficiente como para poder llevar a cabo muchas determinaciones.

En nuestra experiencia, de los 20 casos estudiados 15 eran diabéticos y los 5 restantes sujetos sanos, sin aparentes trastornos metabólicos, que fueron considerados como "normales".

La observación de las curvas experimentales obtenidas, nos revela en ellas dos fases muy características: una primera parte ascendente, que llamaremos, por analogía con la obtenida en la primera parte de las curvas en la prueba de insulina libre de glucagon, como "curva de asimilación", que es más o menos pronunciada según el efecto hipoglicémico producido, seguida de una parte descendente que llamaremos "curva de recuperación", que se inicia en el punto de mínimo alcanzado y que tiende al valor inicial a medida que pasa el tiempo.

Los casos 1 a 5 son personas sanas y la respuesta obtenida en ellas la hemos considerado como normal. La curva de asimilación experimenta un momento del 65 al 80 % del valor inicial a los 30 minutos de la inyección, descendiendo luego a valores próximos al de ayunas entre los 60 y 120 minutos.

En los diabéticos hemos podido observar dos tipos bien definidos de respuestas que nos permiten incluir en un primer grupo a aquellos sujetos que responden en forma intensa (elevación de la glucemia por encima del 30% sobre el

valor inicial), en los primeros minutos de la prueba y muestran una curva de recuperación plana (descenso lento de la glucemia con valores superiores al de ayunas aún a las 2 horas), (casos 6 a 13). Estos diabéticos son en general personas de mediana edad o adultos, que no desarrollan fácilmente estados de cetoacidosis; son los llamados por Kirtley "diabéticos estables".

En el otro grupo incluimos a aquellos diabéticos que muestran una respuesta baja (elevación de la glucemia menor del 30 %) y un rápido descenso en la fase de recuperación (alcanzan la cifra inicial mucho antes de los 60 minutos) (casos 14 a 20). Hemos podido establecer que tal circunstancia ocurre en niños o jóvenes diabéticos, o en adultos con diabetes juvenil, es decir, en aquellos casos definidos por Kirtley como "diabéticos inestables". En ellos su labilidad es tal, que pasan fácilmente al estado de cetoacidosis, y en algunos casos las variaciones horarias y diarias de su perfil glucémico son tan manifiestas que se observan verdaderas hipoglucemias seguidas de francas hiperglucemias.

Hemos podido comprobar, en todos los casos en que empleamos el glucagon en humanos, (en las experiencias preliminares, en adicciones (25), caso en los 20 casos experimentales aquí), que su administración por vía endovenosa es inocua, no habiéndose registrado ningún caso de intolerancia, alergia o toxicidad.

Asimismo hemos observado que en todos los casos, normales o no, la administración de glucagon por vía endovenosa produce elevación de la glucemia, en mayor o me-

por proporción, dependiendo esta cosa se ha establecido, de su efecto glicogenolítico sobre los depósitos de glicógeno del hígado. El aumento de la glicemia provocado por el glucagon sería entonces una medida de la cantidad de glicógeno almacenado en el hígado en el momento de la prueba, y por ende cabría suponer que sería asimismo, una medida de la cantidad de insulina endógena activa circulante.

En los diabéticos inestables, la respuesta al glucagon es anormal o baja, debido probablemente a un déficit de insulina circulante, en un todo de acuerdo con las experiencias de Bernstein y Lawrence (6). Este déficit de insulina se traduciría en un efecto neoglicogenolítico pequeño, dando como resultado un depósito de glicógeno hepático también pequeño.

En cambio en los diabéticos estables, existe insulina endógena en relativa cantidad, no tanta como la necesaria para sus requerimientos metabólicos, pero sí la suficiente como para producir un depósito mayor de glicógeno que en los inestables. En ellos el efecto glicogenolítico es también mayor, aunque en general inferior al observado en personas normales. Cabría por lo tanto suponer, si esa diferencia de efectos respecto a las personas normales, no sería una medida del déficit de insulina que padecería aquellos respecto de estos.

En lo que respecta a la fase de recuperación, la mayor longitud de la curva observada en los diabéticos estables en comparación con las personas normales, se explicaría, porque en aquellos, la actividad insulínica es subnor-

nal y en consecuencia la utilización o desaparición de la glucosa de la sangre se hace más lentamente. En los diabéticos inestables las cantidades de glucosa liberadas por el glucógeno son muy pequeñas y por ello desaparecen de la sangre con mayor velocidad que en el normal o en el diabético estable; esta desaparición se efectuaría tanto por difusión hacia los espacios extracelulares como por verdadera utilización periférica.

Finalmente podríamos decir que el diabético estable es poco sensible a la insulina porque posee glucógeno endógeno que le permite contrarrestar las descargas bruscas de la glucemia. En cambio el diabético inestable sería muy sensible a la insulina por carecer de glucógeno endógeno, y entonces no podría contrarrestar la disminución intensa de la glucemia; tendría pues, un déficit de ambas sustancias: glucógeno e insulina.-

Tabla N° 5VALORES EXPERIMENTALES OBTENIDOS CON LA INSULINA
LIVRE DE GLUCOSA (°)

Caso	Ayunas	5 min.	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.
N° 1						
G	93	71	66	50	76	89
D		- 22	- 27	- 43	- 17	- 4
ℱ		- 23	- 28	- 46	- 18	- 4
N° 2						
G	100	59	56	64	76	95
D		- 41	- 44	- 36	- 24	- 5
ℱ		- 41	- 44	- 36	- 24	- 5
N° 3						
G	94	59	50	46	77	86
D		- 35	- 44	- 48	- 17	- 8
ℱ		- 36	- 46	- 51	- 18	- 9
N° 4						
G	87	61	52	63	65	92
D		- 26	- 35	- 24	- 22	+ 5
ℱ		- 31	- 40	- 28	- 25	+ 6
N° 5						
G	76	58	42	58	64	67
D		-18	- 34	- 18	- 12	- 9
ℱ		-33	- 45	- 33	- 15	- 11

- (°) G : Valor de la glucemia en mg % ml de sangre.
 D : Diferencias absolutas entre los valores de las glucemias a los diferentes tiempos y el valor inicial.
 ℱ : Valor porcentaje de D.

Caso	Ayunas	5 min.	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.
Nº 6						
G	176	130	126	146	161	180
D		- 46	- 50	- 30	- 15	+ 4
X		- 26	- 28	- 17	- 8	+ 2
Nº 7						
G	160	112	100	115	126	140
D		- 48	- 60	- 45	- 34	- 20
X		- 30	- 37	- 28	- 21	- 12
Nº 8						
G	75	59	60	50	54	54
D		- 16	- 15	- 25	- 21	- 21
X		- 21	- 20	- 13	- 28	- 28
Nº 9						
G	95	89	61	70	73	74
D		- 6	- 34	- 25	- 22	- 21
X		- 6	- 36	- 26	- 23	- 22
Nº 10						
G	91	70	61	58	66	73
D		- 21	- 30	- 33	- 25	- 18
X		- 29	- 33	- 36	- 24	- 20
Nº 11						
G	80	59	54	47	63	86
D		- 21	- 26	- 33	- 17	+ 6
X		- 26	- 32	- 42	- 21	+ 7

Caso	Ayuno	5 min.	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.
Nº 12						
G	172	116	110	122	138	120
D		- 55	- 61	- 49	- 33	- 51
%		- 32	- 36	- 29	- 19	- 30
Nº 13						
G	227	198	194	152	111	90
D		- 69	- 73	- 75	-116	-127
%		- 30	- 32	- 34	- 51	- 56
Nº 14						
G	333	139	87	74	139	200
D		-194	-246	-259	-194	-133
%		- 58	- 74	- 79	- 58	- 40
Nº 15						
G	160	110	90	43	56	80
D		- 50	- 70	-117	-104	-
%		- 31	- 42	- 73	- 65	- 50
Nº 16						
G	136	69	33	50	80	114
D		- 67	-103	- 86	- 56	- 22
%		- 49	- 75	- 63	- 41	- 16
Nº 17						
G	100	90	76	109	126	148
D		-100	-114	- 81	- 64	- 42
%		- 52	- 59	- 42	- 33	- 22

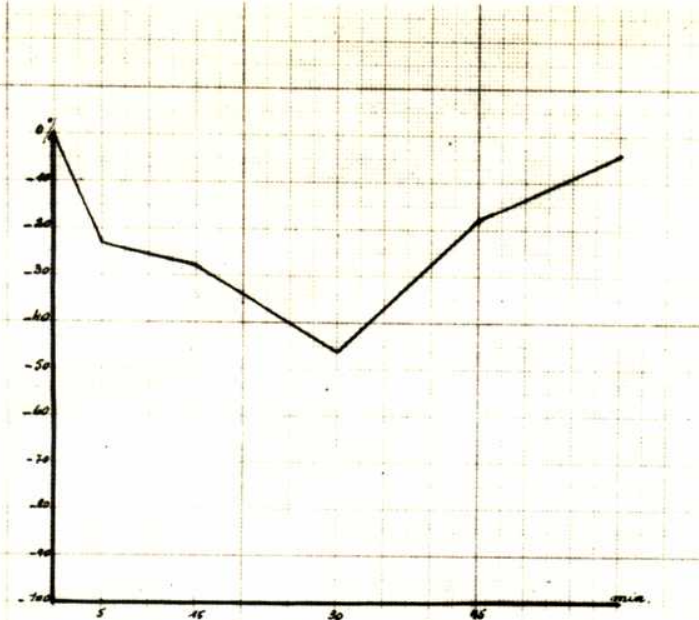
Caso	Ayuntamiento	5 min.	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.
Nº 18						
G	185	112	90	90	98	106
D		- 73	- 95	- 95	- 87	- 79
%		- 40	- 51	- 51	- 47	- 43
Nº 19						
G	66	61	23	37	52	69
D		- 5	- 43	- 29	- 14	+ 3
%		- 7	- 65	- 44	- 21	+ 4
Nº 20						
G	74	62	27	36	44	55
D		- 12	- 47	- 33	- 30	- 19
%		- 16	- 63	- 51	- 40	- 26
Nº 21						
G	66	22	32	36	43	51
D		- 44	- 34	- 30	- 23	- 15
%		- 67	- 52	- 45	- 35	- 22
Nº 22						
G	59	55	25	26	40	44
D		- 4	- 34	- 33	- 19	- 15
%		- 6	- 53	- 56	- 32	- 25
Nº 23						
G	181	153	153	137	120	140
D		- 28	- 28	- 44	- 61	- 41
%		- 15	- 15	- 24	- 34	- 22

Caso	Agunas	5 min.	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.
Nº 24						
0	200	163	149	135	124	120
D		- 37	- 51	- 65	- 76	- 80
Δ		- 18	- 25	- 32	- 38	- 40
Nº 25						
0	110	98	96	79	38	25
D		- 12	- 14	- 31	- 72	- 85
Δ		- 10	- 12	- 28	- 65	- 77
Nº 26						
0	278	238	218	143		
D		- 40	- 60	-135		
Δ		- 14	- 26	- 48		
Nº 27						
0	168	131	112	99	97	97
D		- 37	- 56	- 69	- 71	- 71
Δ		- 22	- 13	- 41	- 42	- 42
Nº 28						
0	96	62	42	38	48	52
D		- 34	- 54	- 58	- 48	- 44
Δ		- 35	- 56	- 60	- 50	- 40
Nº 29						
0	95	88	74	61	76	80
D		- 7	- 21	- 34	- 19	- 15
Δ		- 7	- 22	- 36	- 25	- 16

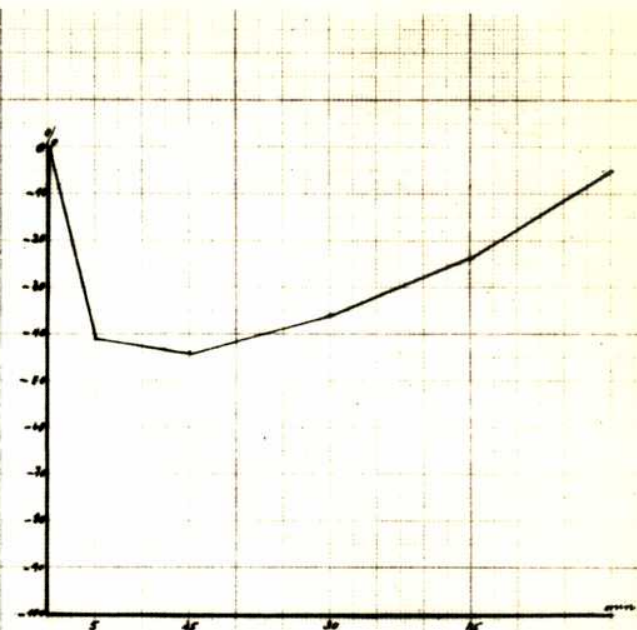
Case	Agunas	5 min.	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.
Nº 30						
G	98	99	70	58	81	90
D		- 3	- 28	- 40	- 17	- 8
%		- 3	- 28	- 41	- 17	- 8
Nº 31						
G	86	84	81	71	45	66
D		- 2	- 5	- 15	- 41	- 20
%		- 2	- 6	- 18	- 48	- 23
Nº 32						
G	87	87	85	81	62	74
D		0	- 2	- 6	- 25	- 13
%		0	- 2	- 7	- 29	- 15
Nº 33						
G	77	61	53	40	38	50
D		- 16	- 24	- 32	- 39	- 27
%		- 20	- 31	- 48	- 50	- 35
Nº 34						
G	58	58	54	43	45	43
D		0	- 4	- 15	- 13	- 15
%		0	- 7	- 26	- 29	- 26
Nº 35						
G	76	73	60	40	37	
D		- 3	- 16	- 36	- 59	
%		- 4	- 21	- 47	- 71	

Case	Average	5 min.	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.
Nº 36						
G	76	76	76	74	27	
D		0	0	- 2	- 49	
%		0	0	- 2,7	- 65	
Nº 37						
G	90	38	35	27		
D		- 12	- 15	- 33		
%		- 24	- 30	- 66		
Nº 38						
G	285	276	285	270	270	282
D		- 9	- 20	- 15	- 15	- 2
%		- 3	- 7	- 5	- 5	- 0,7
Nº 39						
G	130	141	126	126	128	131
D		+ 11	- 4	- 4	- 2	+ 1
%		+ 8	- 3	- 3	- 1	+ 1
Nº 40						
G	213	194	181	181	213	220
D		- 17	- 32	- 32	0	+ 7
%		- 9	- 15	- 15	0	+ 3
Nº 41						
G	202	200	200	196	210	222
D		- 2	- 2	- 4	+ 8	+ 20
%		- 1	- 1	- 2	+ 4	+ 10

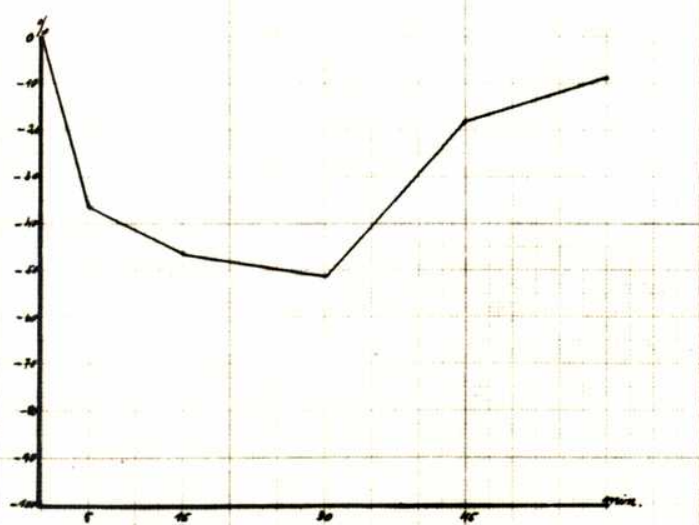
Caso	Ayuno	5 min.	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.
Nº 42						
0	232	200	191	221	227	240
D		- 12	- 41	- 11	- 5	+ 8
%		- 14	- 17	- 5	- 2	+ 3
Nº 43						
0	54	53	49	54	56	54
D		- 1	- 5	0	+ 2	0
%		- 2	- 10	0	+ 4	0
Nº 44						
0	49	49	50	50	50	52
D		0	+ 1	+ 1	+ 1	+ 2
%		0	+ 2	+ 2	+ 2	+ 4
Nº 45						
0	100	96	87	85	85	92
D		- 4	- 13	- 15	- 15	- 8
%		- 4	- 13	- 15	- 15	- 8
Nº 46						
0	97	90	77	81	86	93
D		- 7	- 20	- 16	- 11	- 4
%		- 7	- 21	- 17	- 12	- 4
Nº 47						
0	80	74	74	72	76	78
D		- 6	- 6	- 9	- 4	- 2
%		- 7	- 7	- 11	- 5	- 2



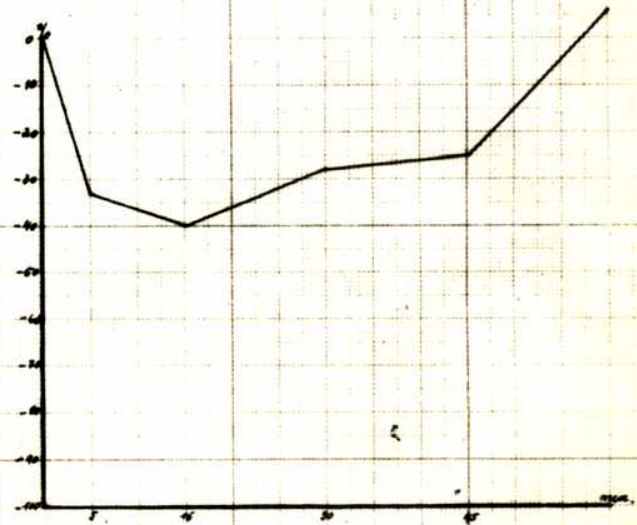
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 1.- SANO - "NORMAL"



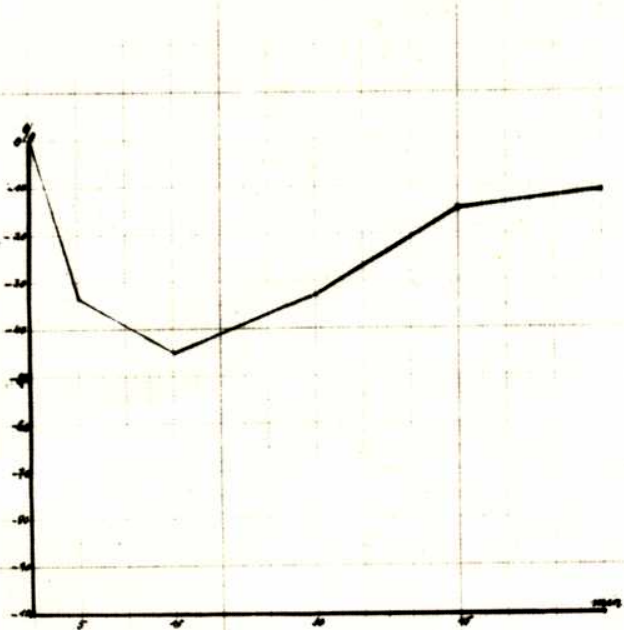
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 2.- SANO - "NORMAL"



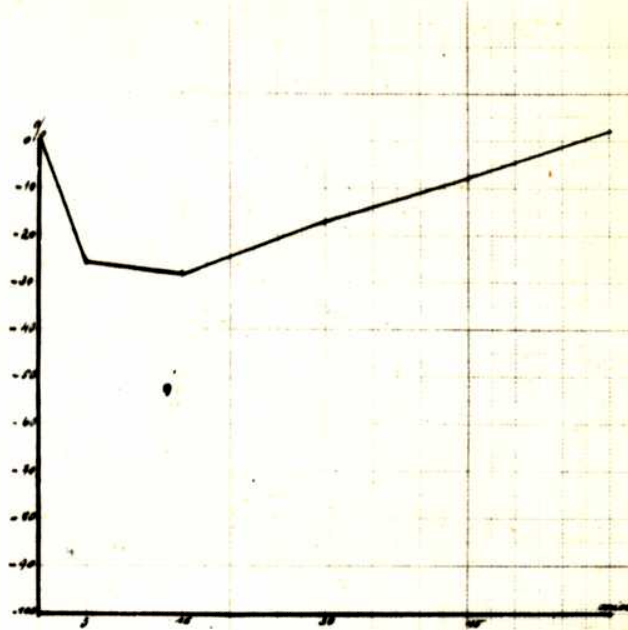
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 3.- SANO - "NORMAL"



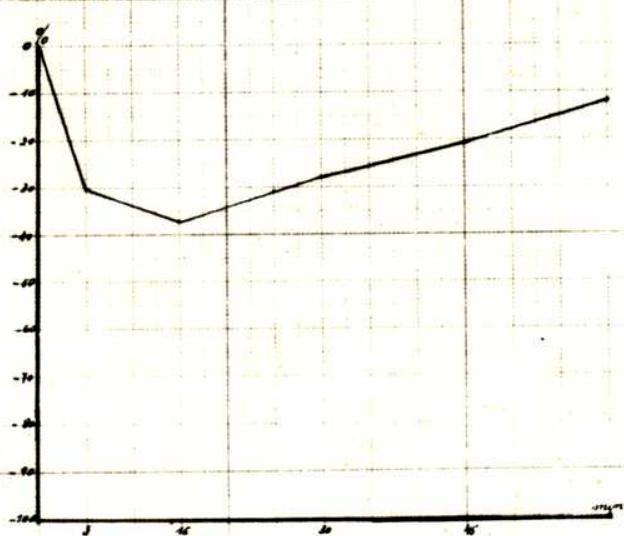
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 4.- SANO - "NORMAL"



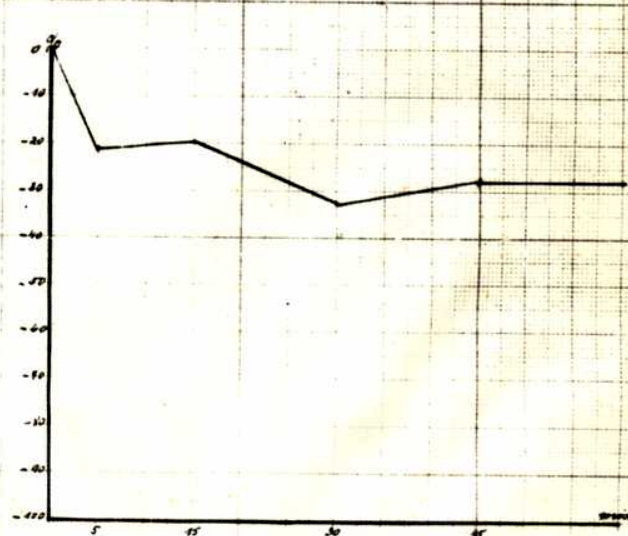
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 5.- SANO - "NORMAL"



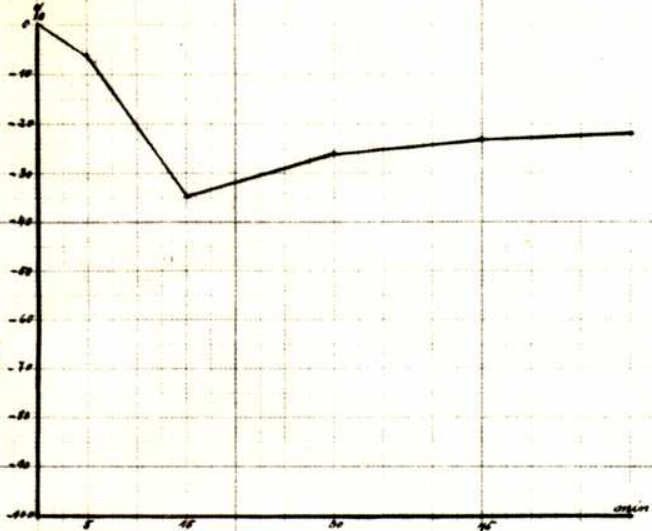
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 6.- DIABETES MELLITUS



PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 7.- DIABETES MELLITUS



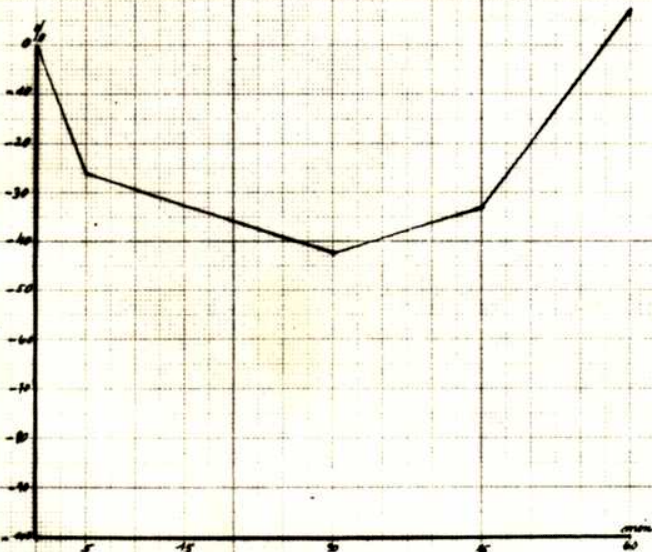
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 8.- OBESIDAD



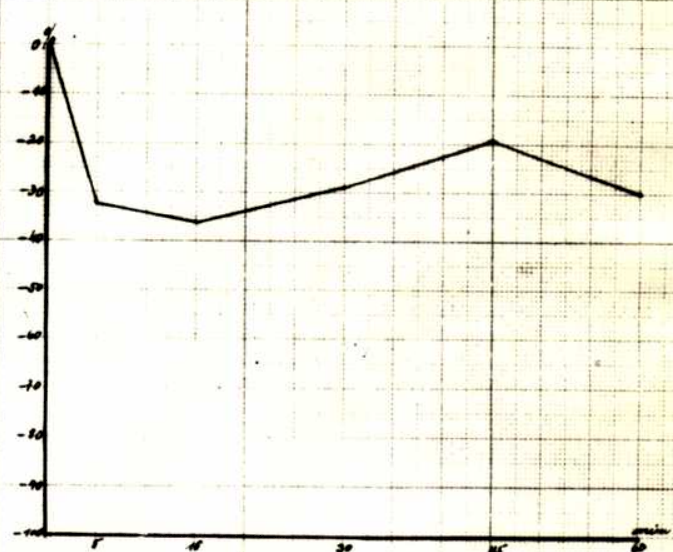
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 9.- OBESIDAD



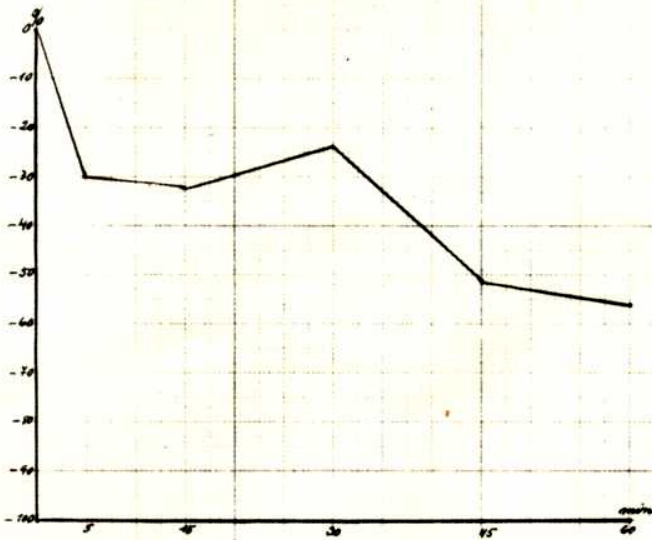
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 10.- DESNUTRICION, HIPERTRIGLICEMIA



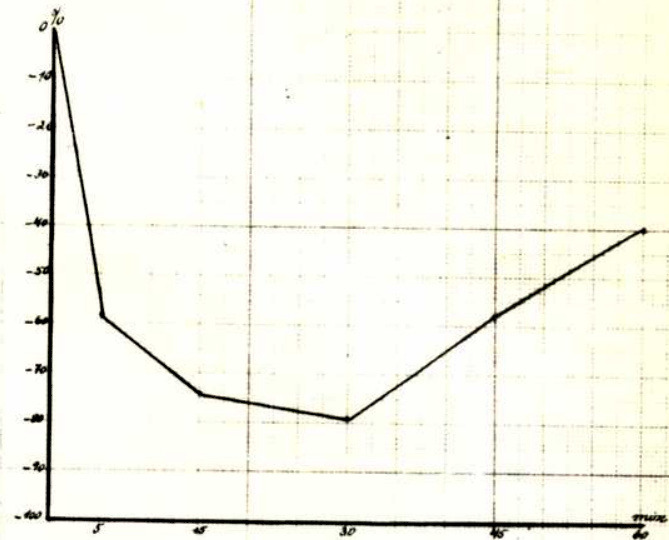
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 11.- HEPATITIS VIROSICA



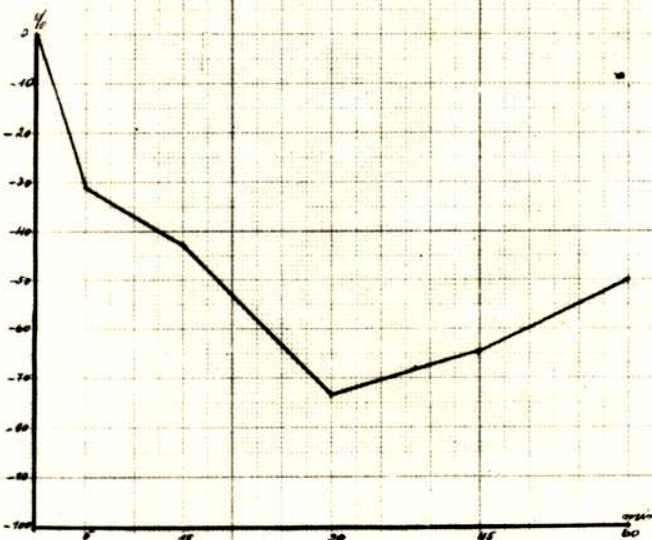
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 12.- DIABETES MELLITUS, EMBARAZO



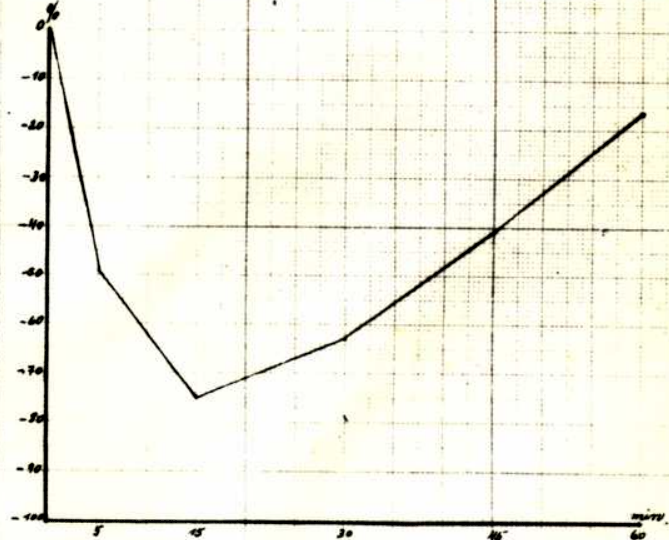
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 13.- DIABETIS MELLITUS, EMBARAZO



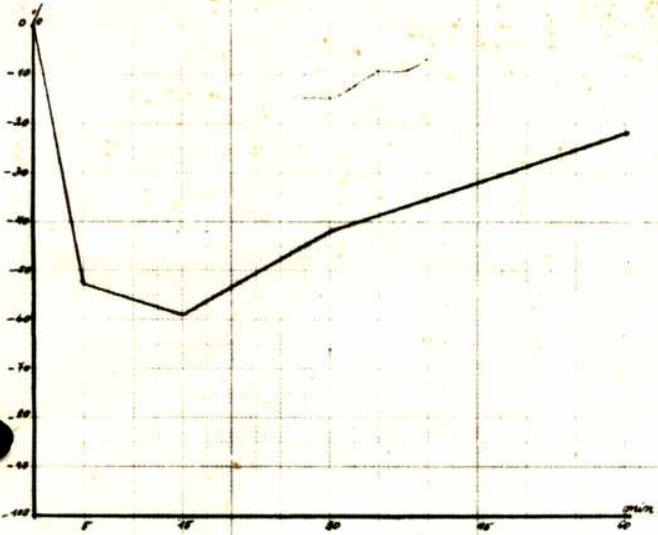
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 14.- DIABETES JUVENIL



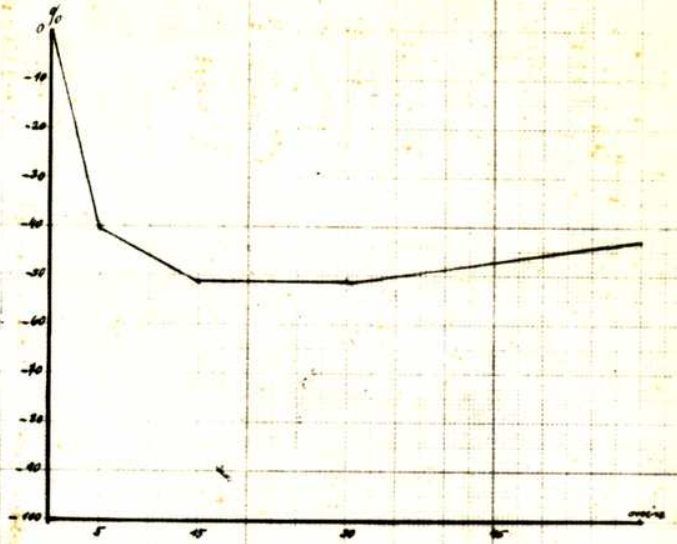
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 15.- DIABETES JUVENIL MUY DESCOMPENSADA



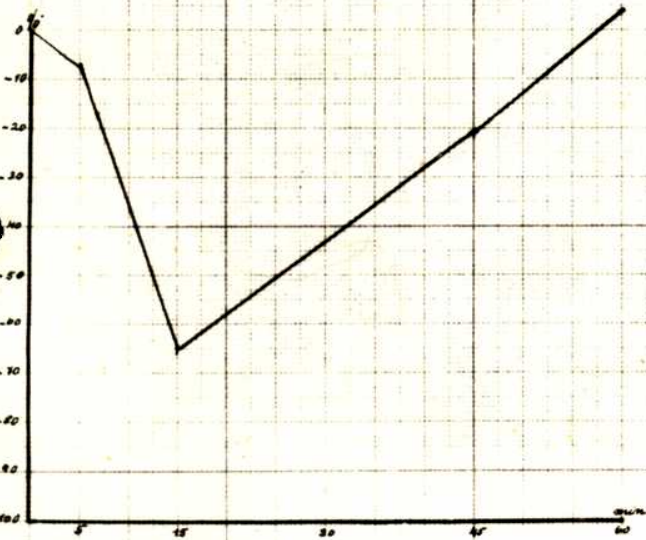
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 16.- DIABETES MELLITUS (NIÑO DE 4 AÑOS)



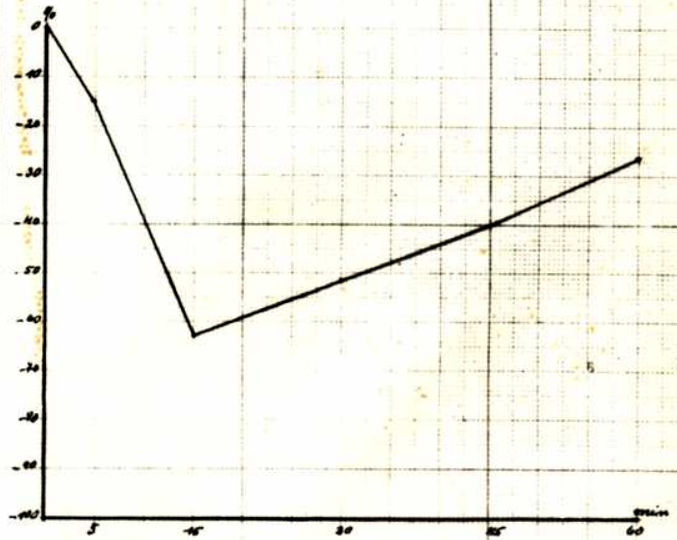
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 17.- DIABETES MELLITUS (NIÑO DE 7 AÑOS)



PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 18.- DIABETES MELLITUS (NIÑO DE 12 AÑOS)



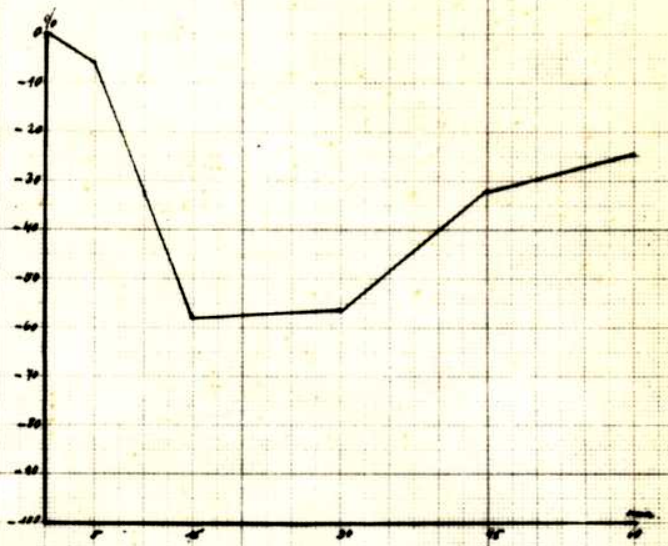
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 19.- HEPATICO



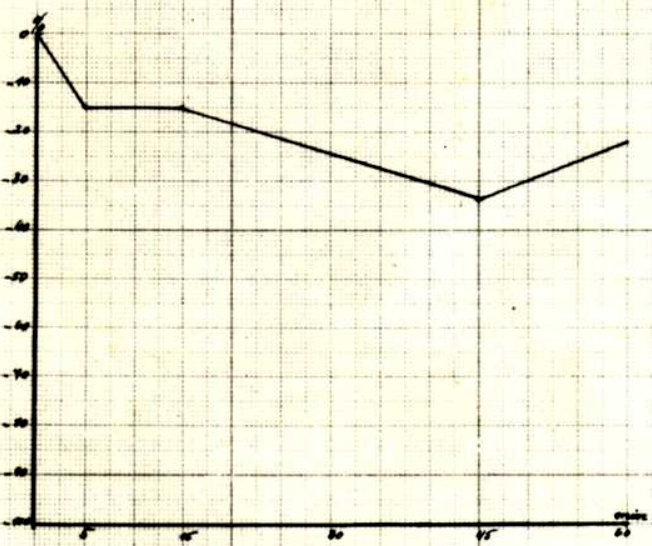
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 20.- HEPATICO



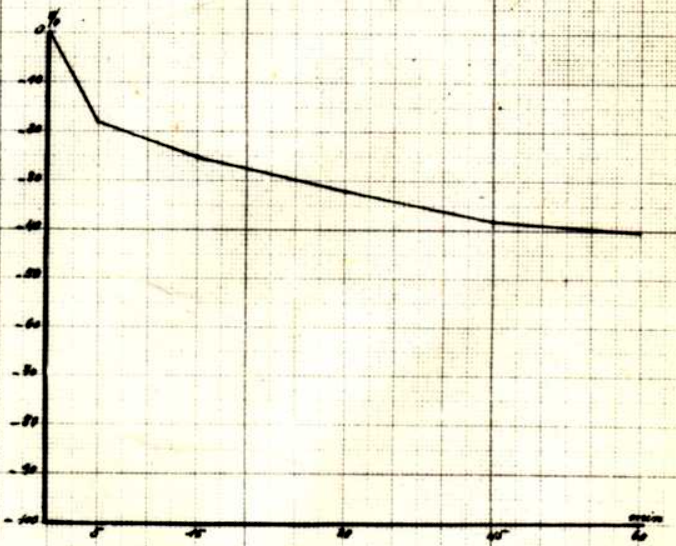
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 21.- GASTRECTOMIZADO



PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 22.- ADDISONIANO



PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 23.- DIABETES MELLITUS, DESNUTRICION



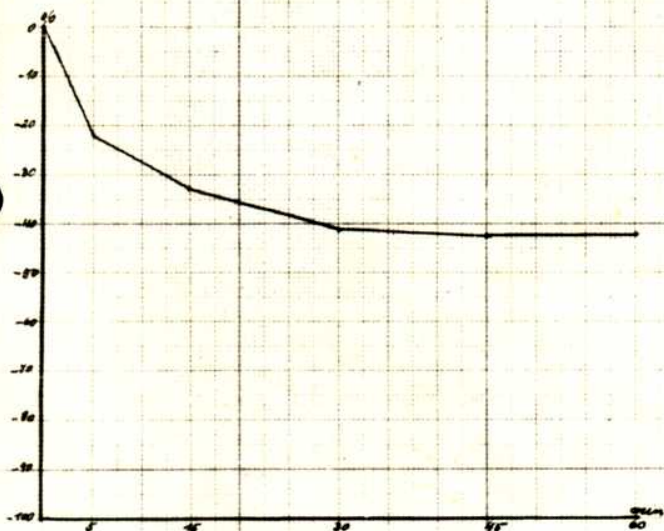
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 24.- (CASO 23 MEJORADO EN SU ESTADO CLINICO)



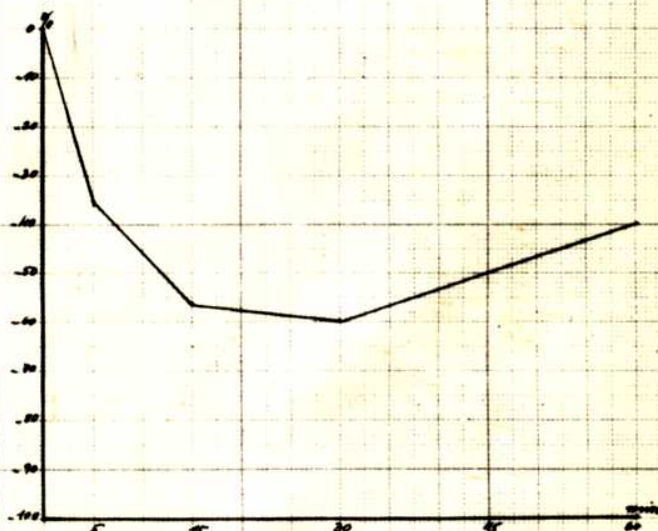
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 25.- DIABETES JUVENIL



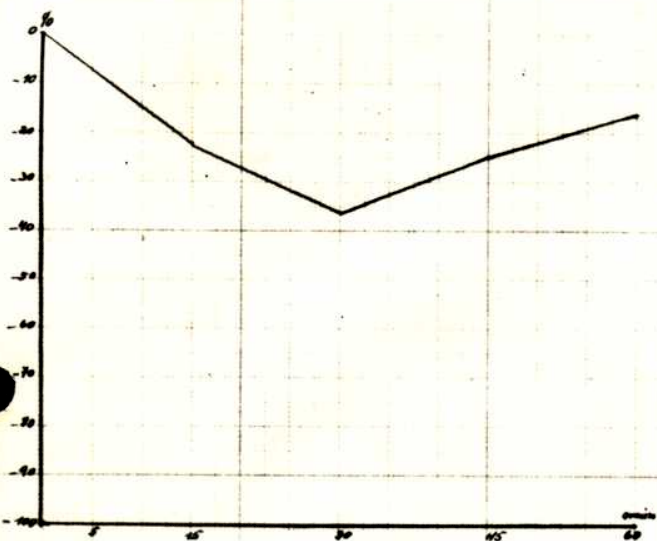
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 26.- DIABETES JUVENIL



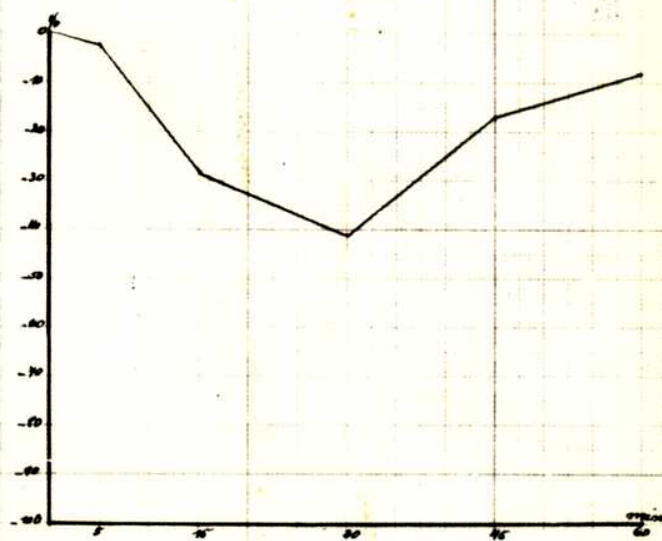
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 27.- DIABETES MELLITUS



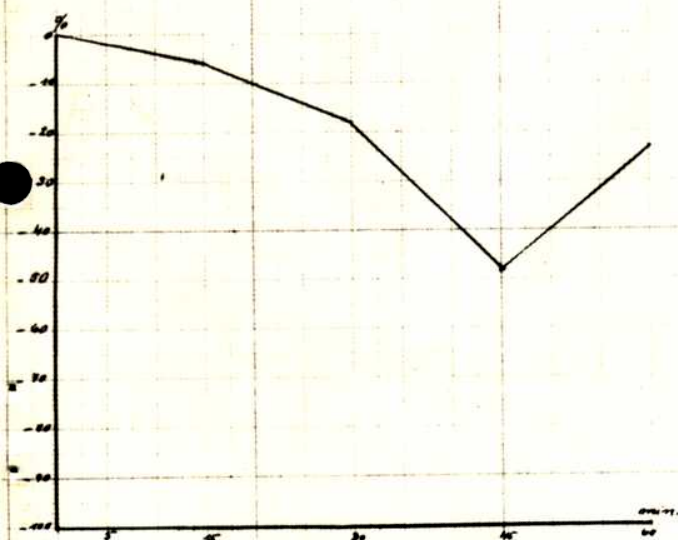
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 28.- DIABETES MELLITUS



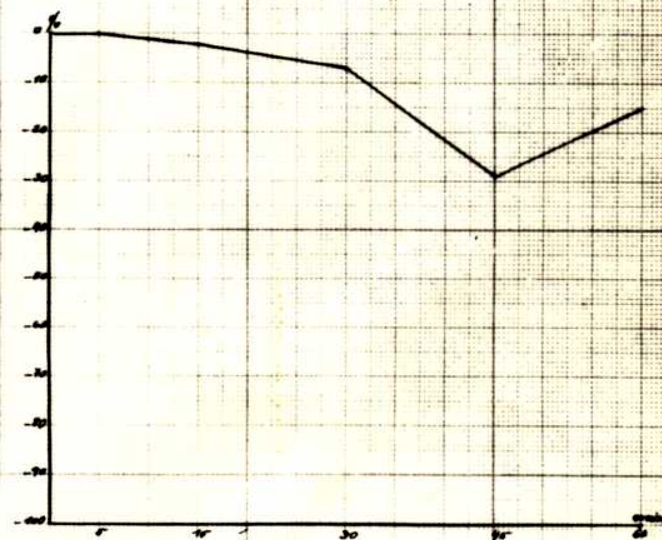
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 29.- HIJO DE DIABETICOS



PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 30.- EMBARAZO CON GLUCOSURIA (HIJA DE DIABETICOS)

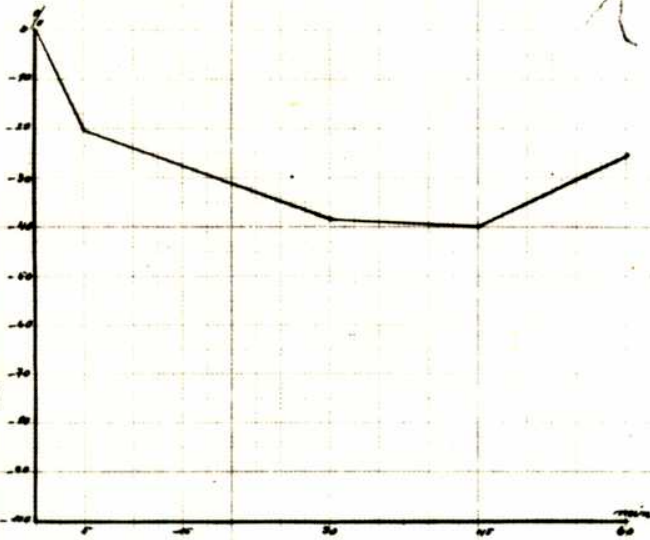


PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 31.- DIABETES MELLITUS Y EMBARAZO

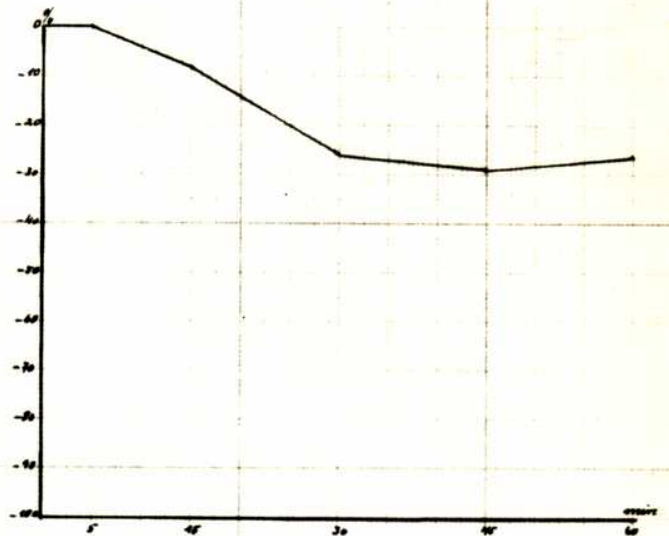


PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 32.- OBESIDAD

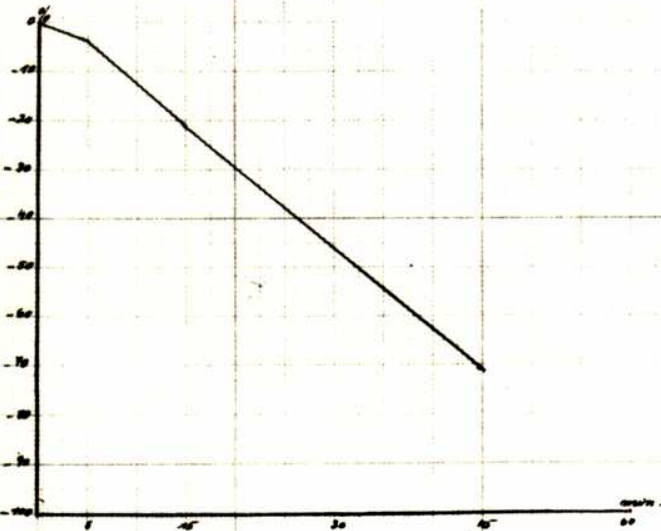
FOE y H-BA.



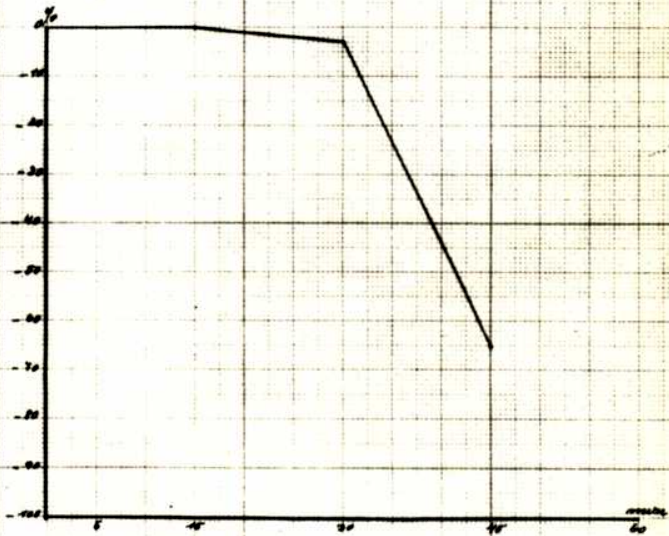
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 33.- TUBERCULOSIS PULMONAR, DESNUTRICION, ANOREXIS



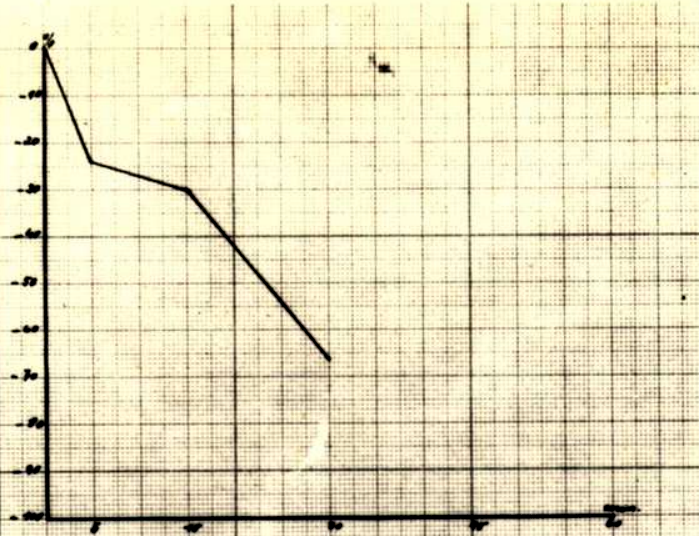
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 34.- DESNUTRICION, FRECUENTES HIPOGLUCEMIAS



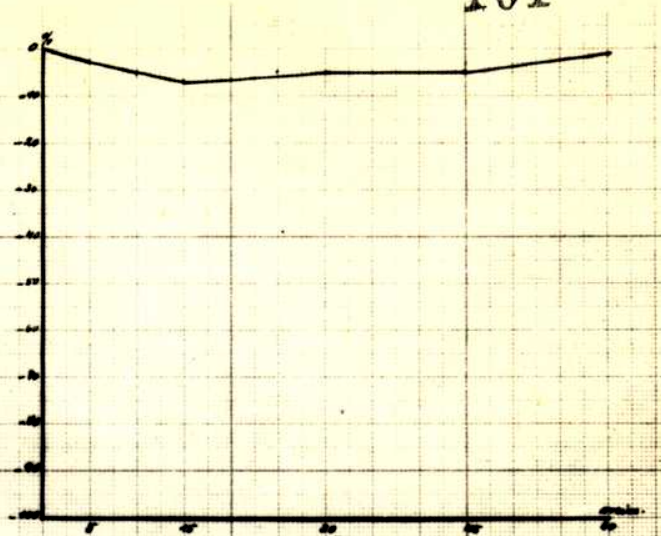
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 35.- DELGADEZ, HIPOGLUCEMIA



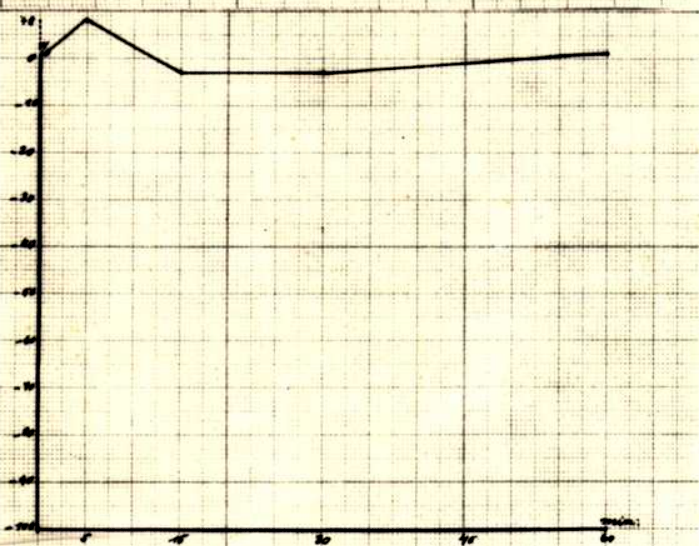
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 36.- ADDISONIANO



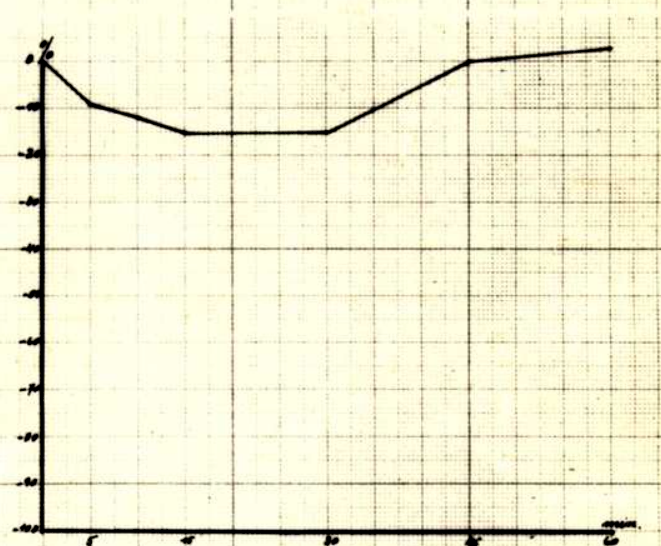
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 37.- TRANSTORNOS GASTRO-INTESTINALES



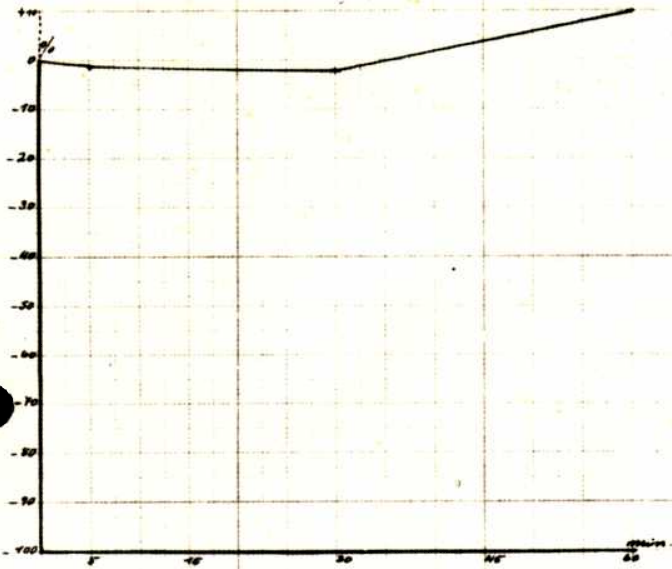
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 38.- DIABETES RESISTENTE (SE HACIA DIARIAMENTE 60 U. INSULINA SIMPLE Y 60 U. INSULINA-PROTAMINA)



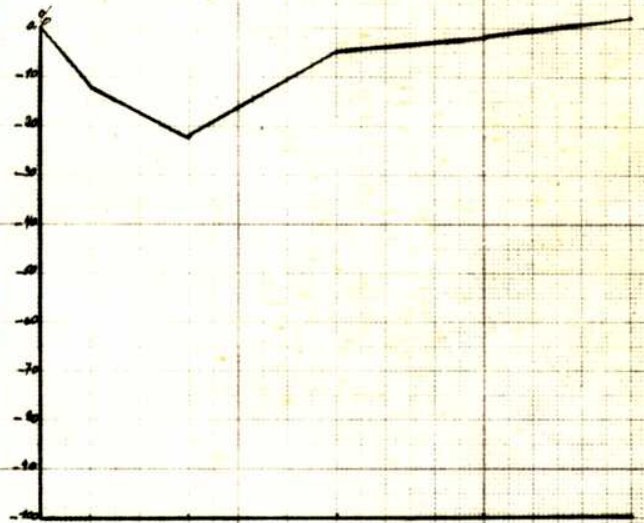
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 39.- DIABETES POSTMENOPAUSICA



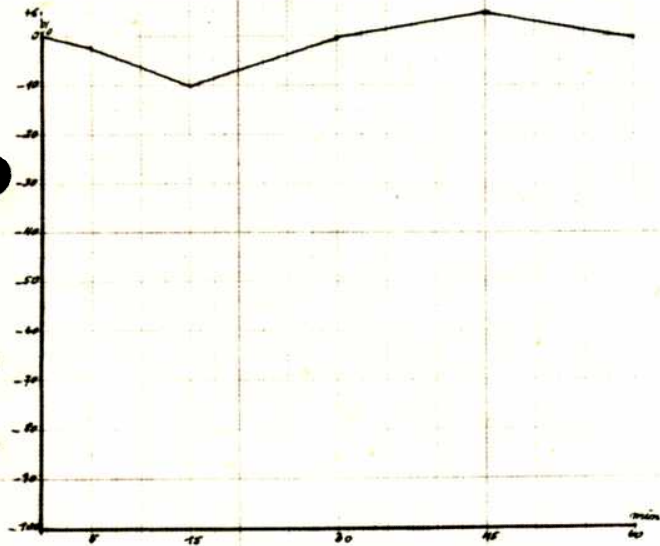
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 40.- DIABETES RESISTENTE (SE HACIA DIARIAMENTE 60 U. DE INSULINA N.P.H.)



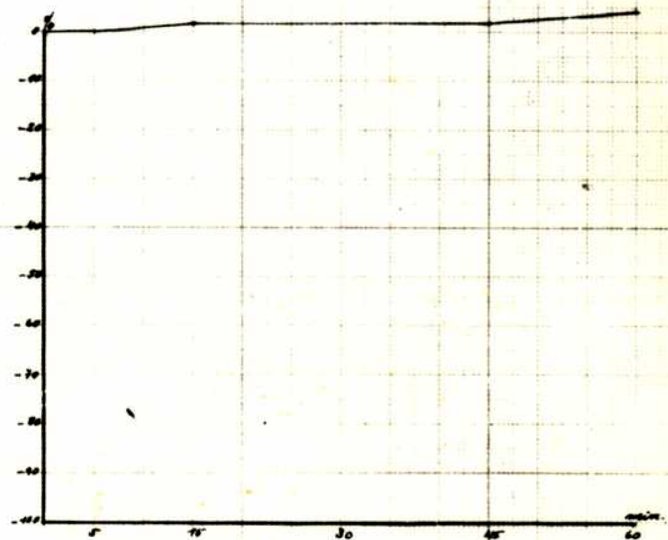
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 41.- DIABETES RESISTENTE (SE HACIA DIARIAMENTE 120 U. DE INSULINA)



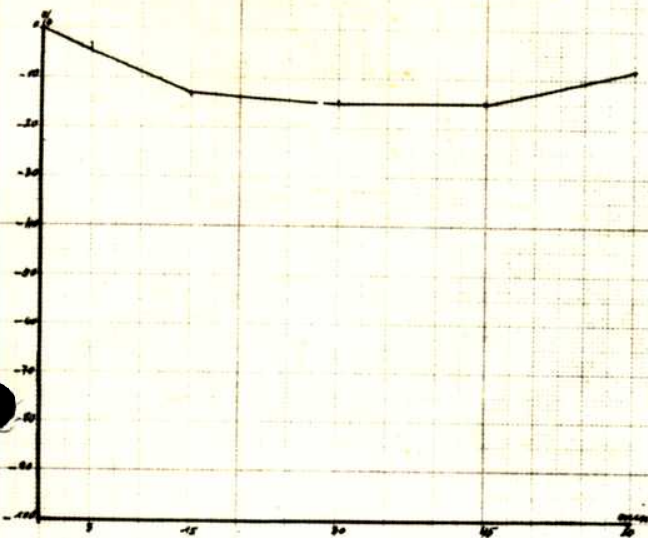
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 42.- DIABETES RECIENTE, OBESIDAD



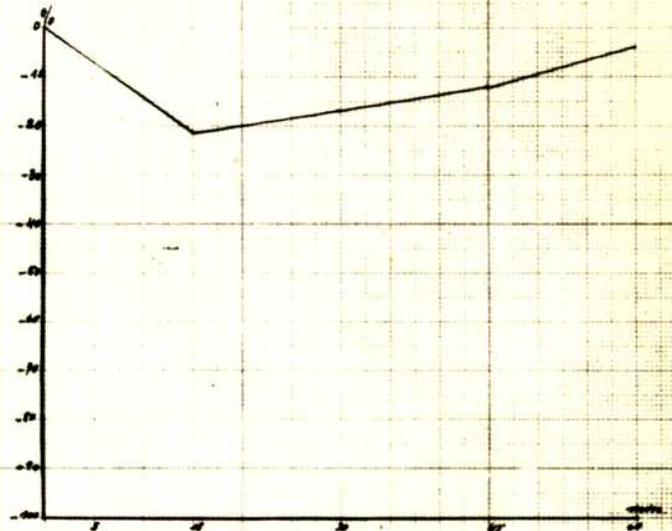
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 43.- HIPOGLUCÉMICO



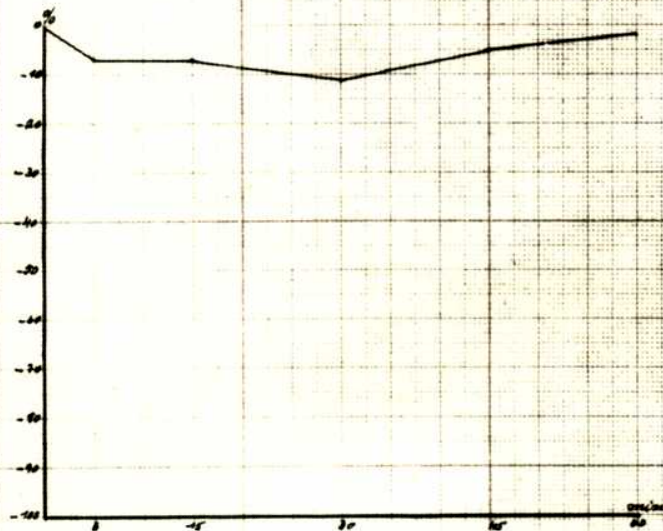
PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 44.- CÁNCER DE PÁNCREAS, HIPOGLUCÉMICO



PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 45.- CARDIACO DESCOMPENSADO



PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 46.- EMBARAZO CON GLUCOSURIA



PRUEBA DE INSULINA LIBRE DE GLUCAGON
CASO 47.- BOCIO, HIPERTIROIDISMO

Tabla N° 6
VALORES EXPERIMENTALES OBTENIDOS CON EL GLUCAGON LIBRE
DE INSULINA (*)

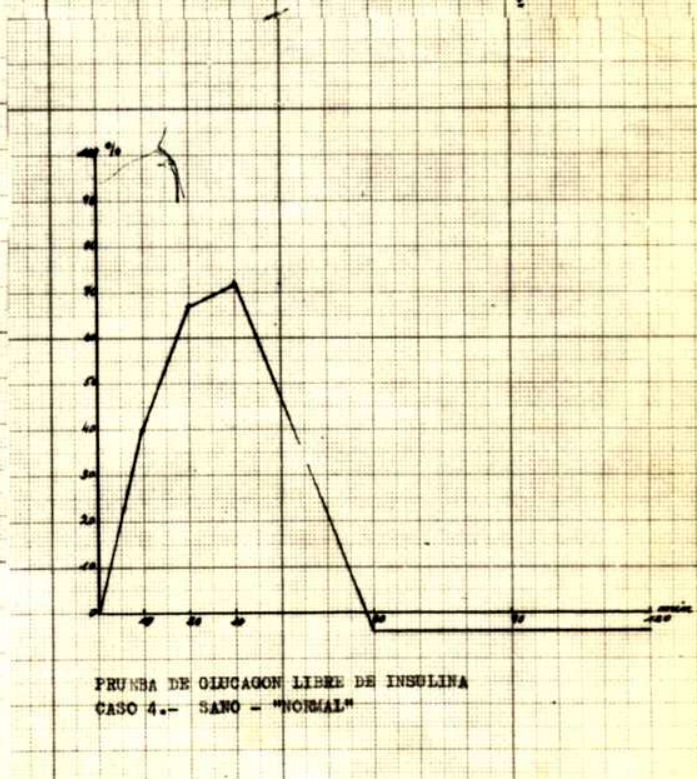
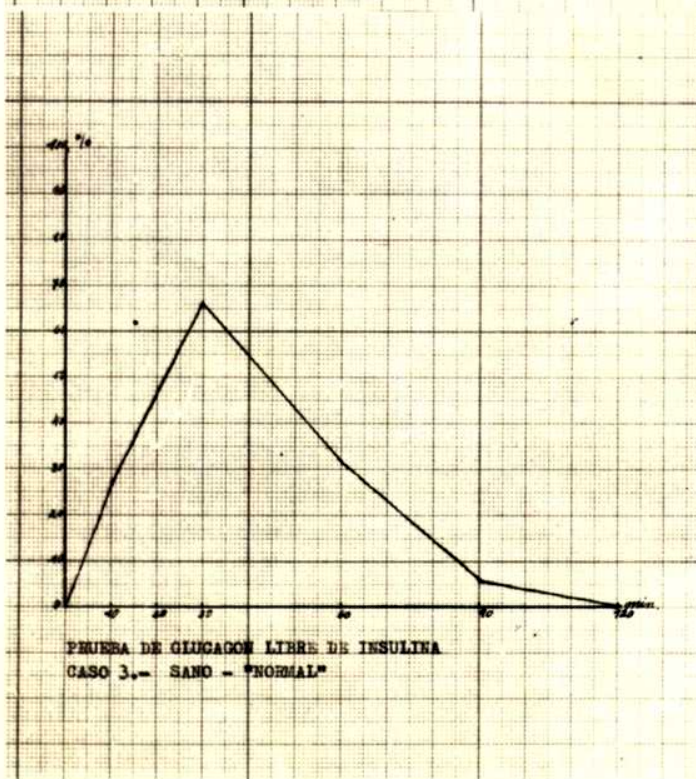
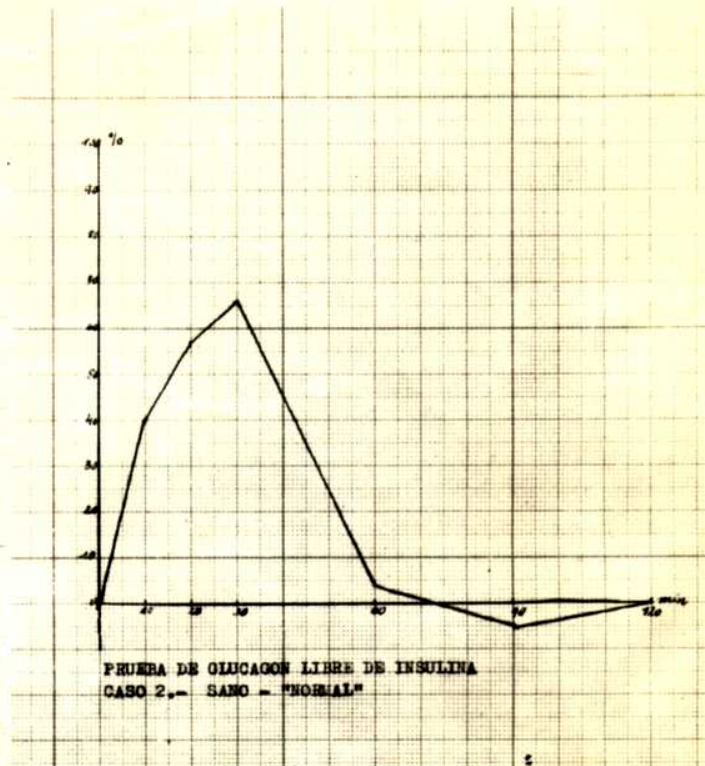
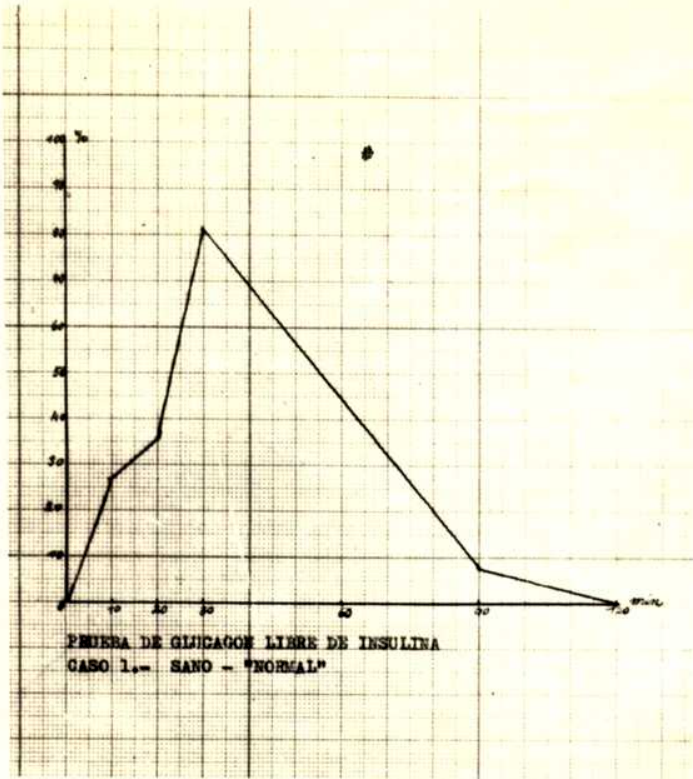
Case	Ayunas	10 min.	20 min.	30 min.	60 min.	90 min.	120 min.
N° 1							
G	80	101	109	145	115	86	80
D		+ 21	+ 29	+ 65	+ 35	+ 6	0
%		+ 26	+ 36	+ 81	+ 44	+ 8	0
N° 2							
G	73	102	114	121	76	69	72
D		+ 29	+ 41	+ 48	+ 3	- 4	- 1
%		+ 40	+ 57	+ 66	+ 4	- 5	- 1
N° 3							
G	90	114	132	149	119	96	90
D		+ 24	+ 42	+ 59	+ 29	+ 6	0
%		+ 27	+ 47	+ 66	+ 32	+ 7	0
N° 4							
G	86	120	144	148	82	82	83
D		+ 34	+ 58	+ 62	- 4	- 4	- 3
%		+ 40	+ 67	+ 72	- 4	- 4	- 3
N° 5							
G	93	129	147	154	115	99	87
D		+ 36	+ 54	+ 61	+ 22	+ 6	- 6
%		+ 39	+ 58	+ 66	+ 24	+ 6	- 6

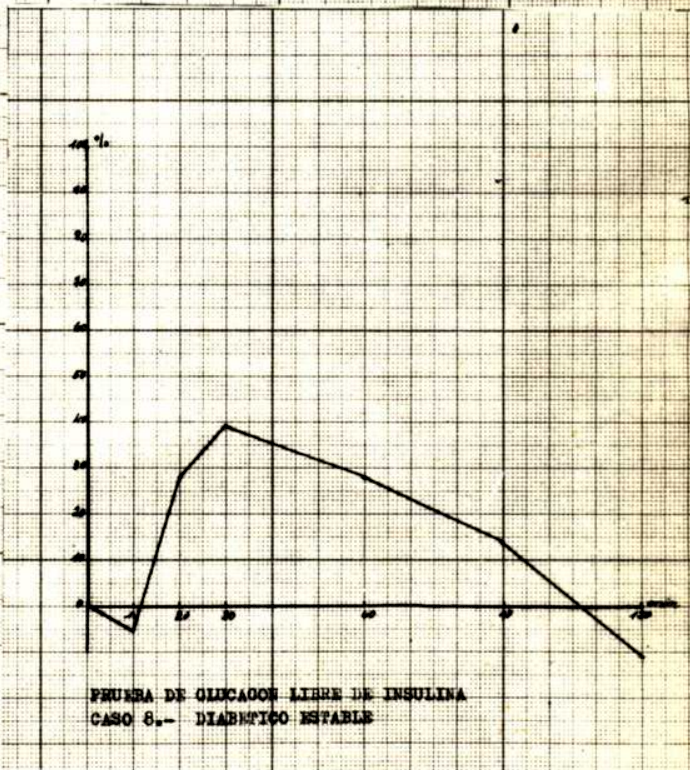
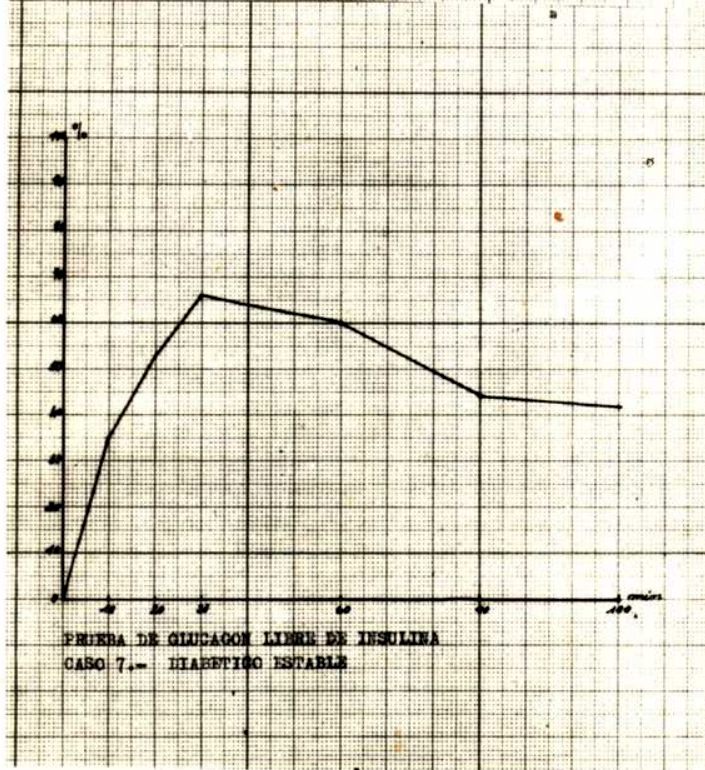
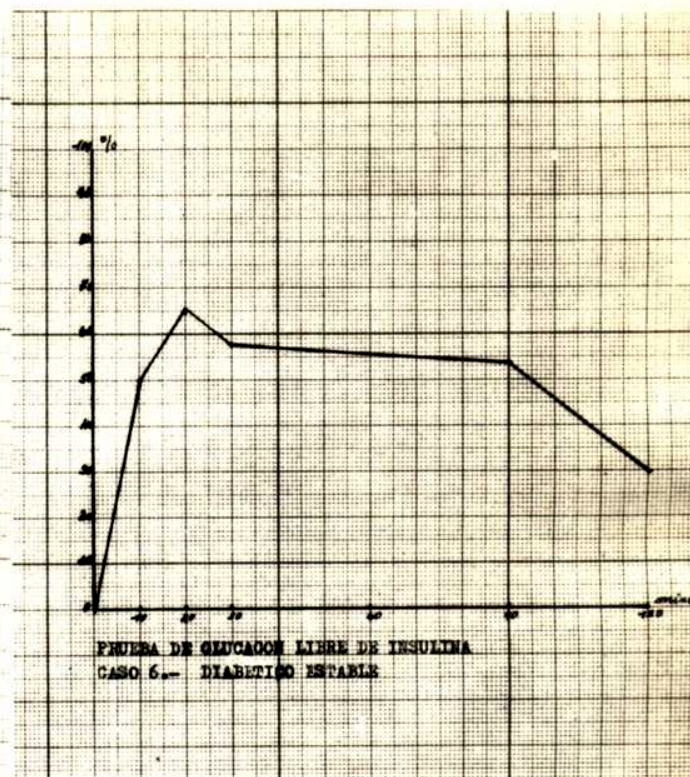
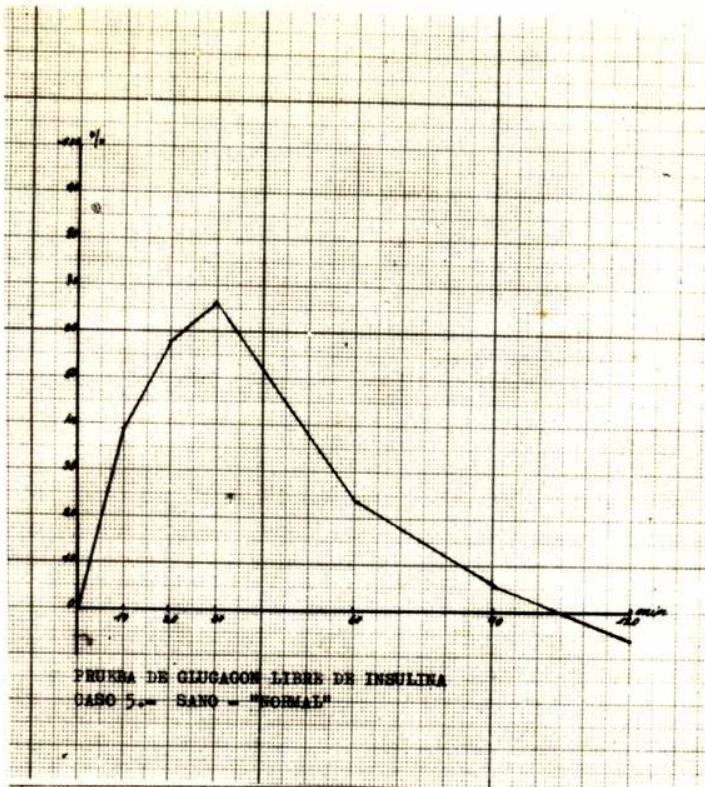
- (*) G: Valor de la glucemia en mg % ml de sangre
D: Diferencias absolutas entre los valores de las glucemias a los diferentes tiempos, y el valor inicial.
%: Valor por ciento de D.

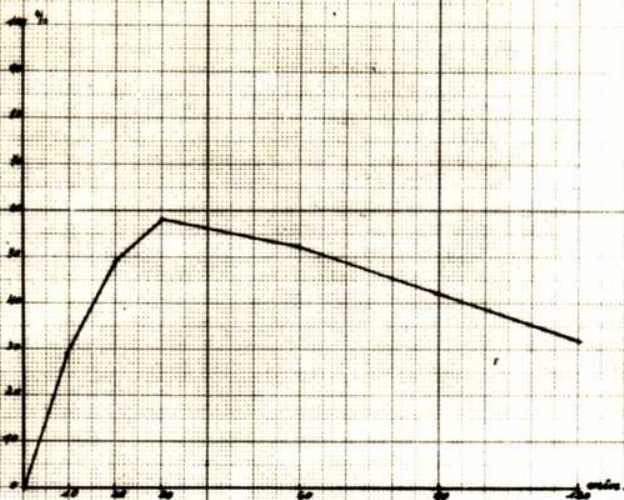
Case	Ayunoas	10 min.	20 min.	30 min.	60 min.	90 min.	120 min.
Nº 6							
C	160	240	265	273	248	246	208
D		+ 80	+ 105	+ 93	+ 88	+ 86	+ 48
%		+ 50	+ 65	+ 58	+ 55	+ 54	+ 30
Nº 7							
C	144	194	220	235	226	207	204
D		+ 50	+ 76	+ 95	+ 72	+ 63	+ 60
%		+ 35	+ 53	+ 66	+ 50	+ 44	+ 42
Nº 8							
C	100	95	128	139	128	114	89
D		- 5	+ 28	+ 39	+ 28	+ 14	- 11
%		- 5	+ 28	+ 39	+ 28	+ 14	- 11
Nº 9							
C	119	134	177	188	181	171	157
D		+ 35	+ 58	+ 69	+ 62	+ 52	+ 38
%		+ 29	+ 49	+ 58	+ 52	+ 42	+ 32
Nº 10							
C	143	199	251	235	223	190	183
D		+ 56	+ 108	+ 92	+ 80	+ 47	+ 40
%		+ 39	+ 75	+ 68	+ 56	+ 33	+ 28
Nº 11							
C	156	183	196	204	200	174	168
D		+ 27	+ 40	+ 48	+ 44	+ 18	+ 12
%		+ 17	+ 26	+ 31	+ 28	+ 11	+ 8

Case	Ayuno	10 min.	20 min.	30 min.	60 min.	90 min.	120 min.
Nº 12							
e	111	167	172	172	160	146	139
D		+ 56	+ 61	+ 61	+ 49	+ 35	+ 28
f		+ 50	+ 55	+ 55	+ 35	+ 11	+ 25
Nº 13							
e	189	246	297	308	318	304	293
D		+ 57	+ 108	+ 119	+ 129	+ 115	+ 104
f		+ 30	+ 57	+ 63	+ 68	+ 61	+ 55
Nº 14							
e	222	265	255	255	244	231	231
D		+ 43	+ 33	+ 33	+ 22	+ 9	+ 9
f		+ 20	+ 15	+ 15	+ 10	+ 4	+ 4
Nº 15							
e	190	209	228	237	194	192	182
D		+ 19	+ 38	+ 47	+ 4	+ 2	- 8
f		+ 10	+ 20	+ 25	+ 2	+ 1	- 4
Nº 16							
e	222	222	233	238	250	181	200
D		0	+ 11	+ 16	+ 28	- 41	- 22
f		0	+ 5	+ 7	+ 13	- 18	- 10
Nº 17							
e	229	294	256	256	246	230	239
D		+ 65	+ 27	+ 27	+ 17	+ 1	+ 10
f		+ 28	+ 12	+ 12	+ 7	+ 1	+ 4

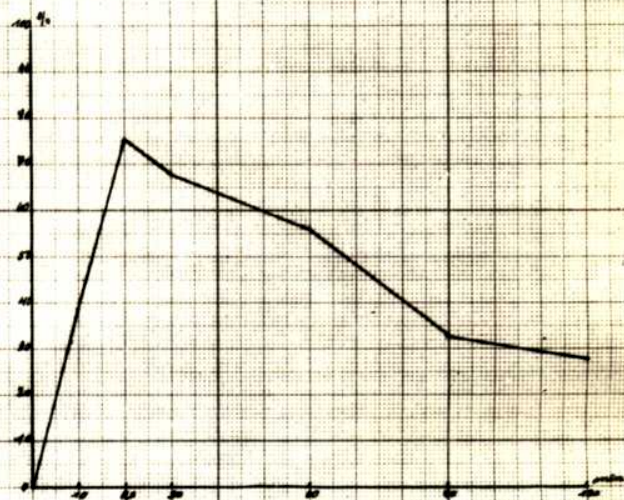
Case	Ayunas	10 min.	20 min.	30 min.	60 min.	90 min.	120 min.
Nº 18							
G	135	143	166	170	143	111	119
D		+ 8	+ 31	+ 35	+ 8	- 24	- 16
%		+ 6	+ 23	+ 25	+ 6	- 18	- 12
Nº 19							
G	240	249	271	303	250	240	216
D		+ 9	+ 31	+ 63	+ 10	0	- 24
%		- / 4	+ 13	+ 26	+ 4	0	- 10
Nº 20							
G	139	176	180	146	130	120	110
D		+ 37	+ 41	+ 7	- 9	- 19	- 29
%		+ 27	+ 29	+ 5	- 6	- 14	- 21



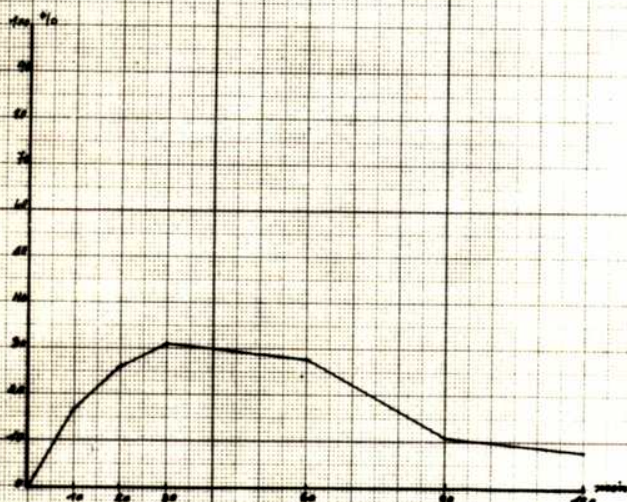




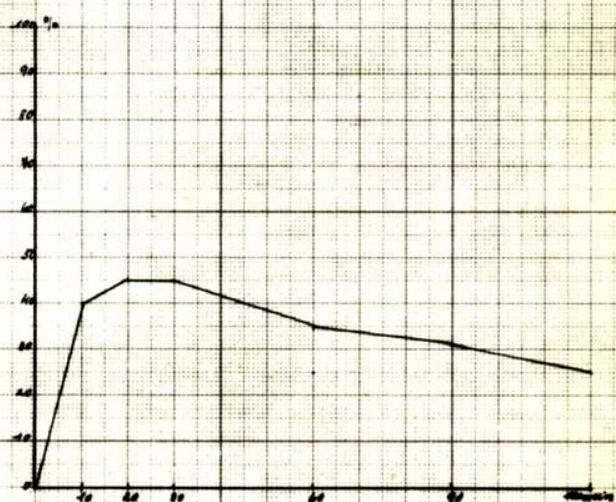
PRUEBA DE GLUCAGON LIBRE DE INSULINA
CASO 9.- DIABETICO ESTABLE



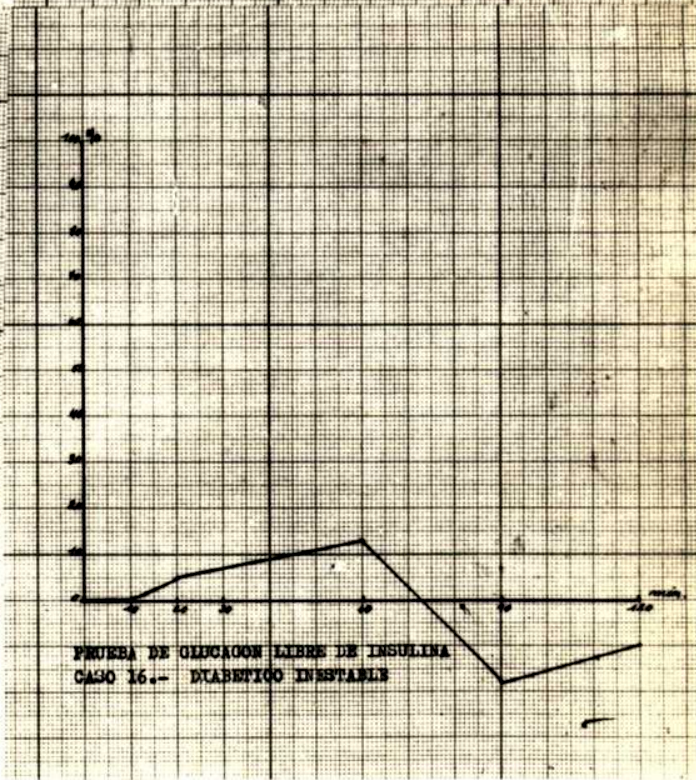
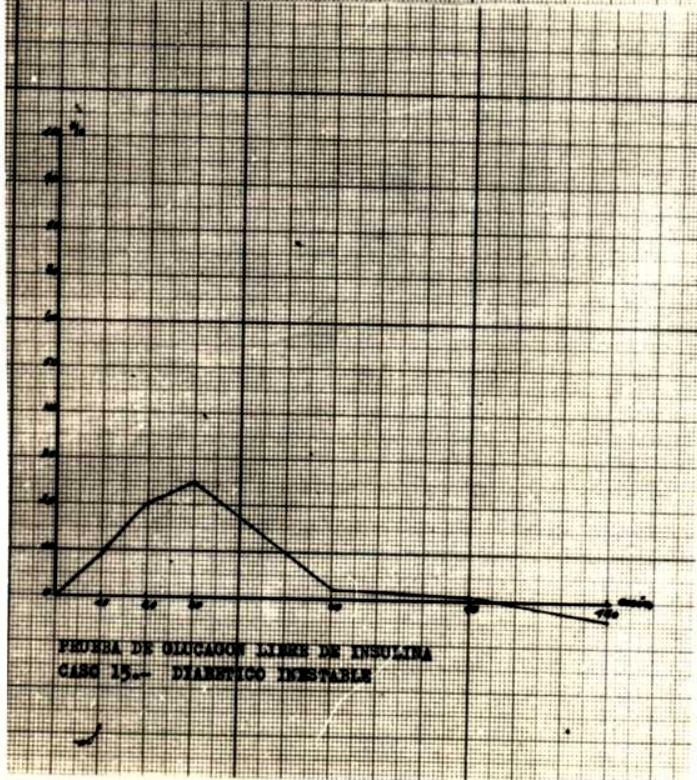
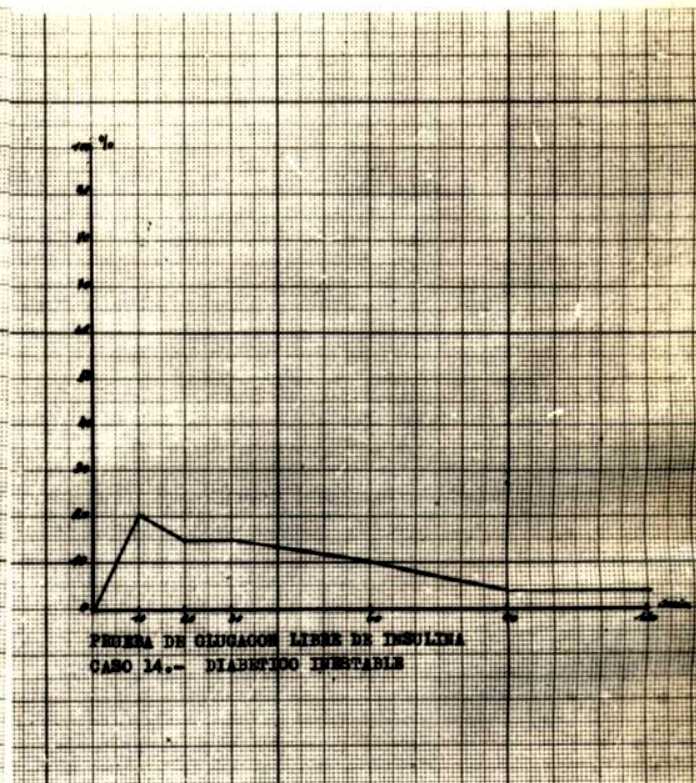
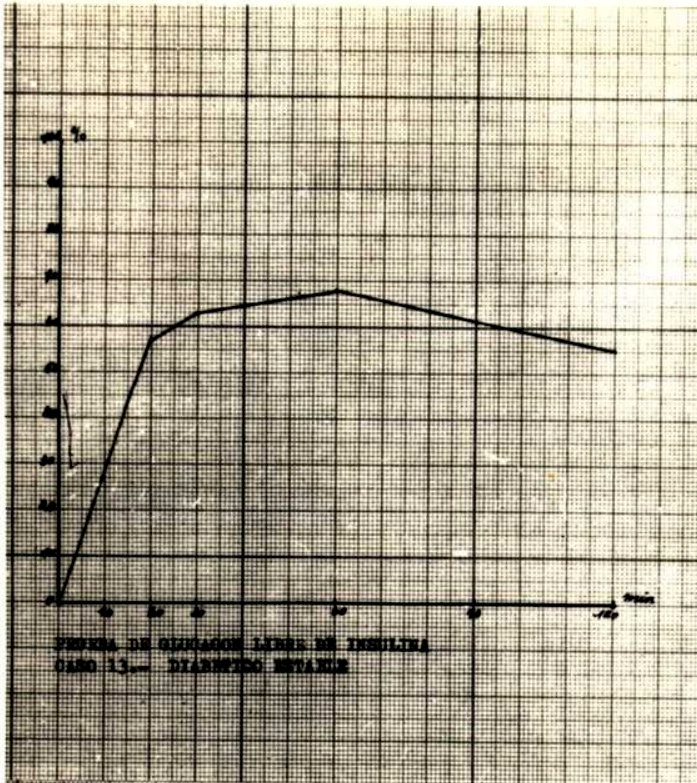
PRUEBA DE GLUCAGON LIBRE DE INSULINA
CASO 10.- DIABETICO ESTABLE

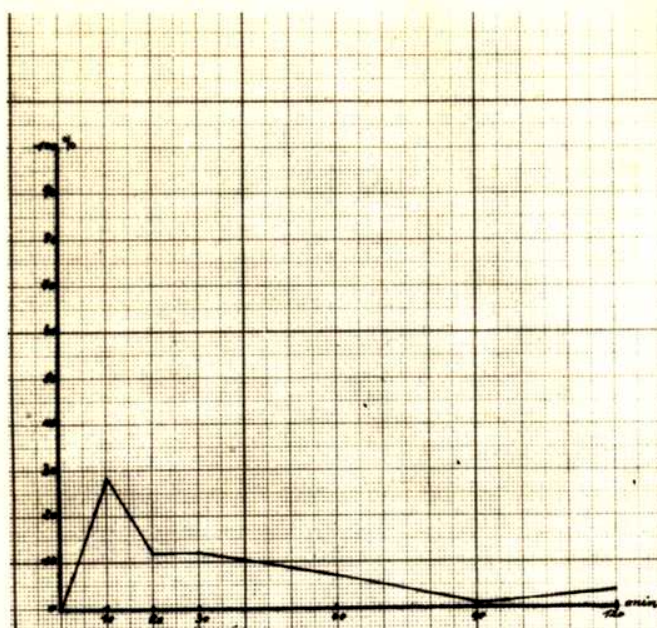


PRUEBA DE GLUCAGON LIBRE DE INSULINA
CASO 11.- DIABETICO ESTABLE

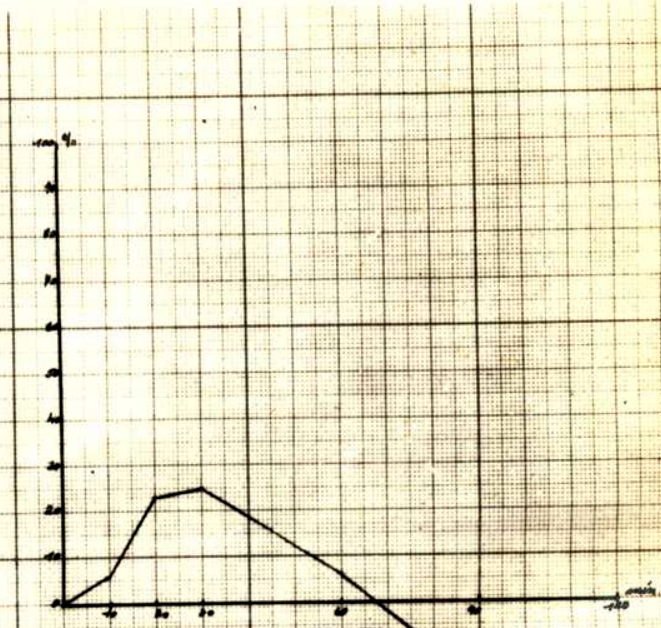


PRUEBA DE GLUCAGON LIBRE DE INSULINA
CASO 12.- DIABETICO ESTABLE

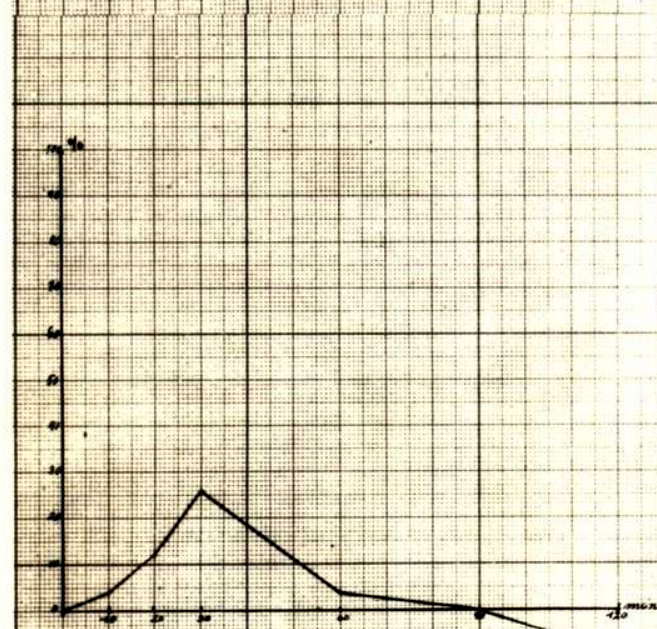




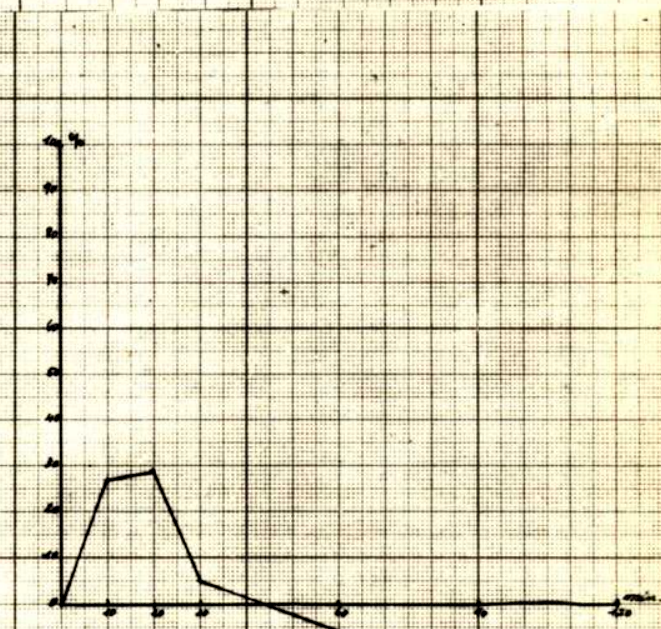
PRUEBA DE GLUCAGON LIBRE DE INSULINA
CASO 17.- DIABETICO INESTABLE



PRUEBA DE GLUCAGON LIBRE DE INSULINA
CASO 18.- DIABETICO INESTABLE



PRUEBA DE GLUCAGON LIBRE DE INSULINA
CASO 19.- DIABETICO INESTABLE



PRUEBA DE GLUCAGON LIBRE DE INSULINA
CASO 20.- DIABETICO INESTABLE

Conclusiones finales

Nuestras experiencias con insulina libre de glucagon y con glucagon libre de insulina nos permiten deducir las siguientes conclusiones:

- 1-) El uso de la insulina libre de glucagon en la prueba de "tolerancia a la insulina" por vía endovenosa, permite obtener resultados más uniformes que aquellos obtenidos cuando se efectúa la misma con insulinas comunes.
- 2-) Que con suficientes sólo 3 unidades de insulina libre de glucagon para la realización de la prueba de tolerancia, a diferencia del uso de 10 o más unidades, como prescriben algunos autores, con las insulinas comunes. El efecto obtenido con 3 unidades, es mínimo, independiente del peso del sujeto y está relacionado con el estado fisiopatológico del mismo.
- 3-) En las pruebas efectuadas de la manera propuesta por nosotros se obtienen los siguientes resultados:
 - a) en las personas normales, la glucemia descendiendo hasta un 30 % del valor en ayunas, a los 5 minutos de la administración de la droga, llega a un mínimo descendente de alrededor de 45 % a los 15 - 30 minutos y se obtiene la recuperación de la glucemia aproximadamente a los 60 minutos.
 - b) en los diabéticos la respuesta depende de su sensibilidad a la insulina, habiéndose encontrado 4 tipos diferentes: sensibilidad normal, hipersensibles, sensibilidad retardada y resistentes.
- 4-) A nuestro criterio, el tiempo de 6 minutos establecido

por Anderson, para dar por finalizada la prueba, es insuficiente, debido a la existencia de sujetos que muestran una sensibilidad aumentada a la insulina, que lo hicieran en forma tardía, por lo que proponemos que la prueba debe prolongarse hasta una hora.

- 9-) Hemos encontrado una hipersensibilidad inmediata a la insulina libre de glucagén en otros estados patológicos (adifenianos, hipotiroideos, hipofisarios, hepáticos, etc.). En el hiperinsulinismo funcional, notamos gran resistencia al efecto hipoglucemiante de la droga.

En lo que respecta a la prueba del glucagén libre de insulina:

- 9-) Que la administración endovenosa en una sola dosis de 20 unidades de glucagén por kilogramo de peso produce:
- a) en las personas normales, una elevación de la glucemia que alcanza al 65 - 80 % del valor en ayunas a los 30 minutos de la inyección y que la recuperación ocurre entre las 60 y 120 minutos.
 - b) en algunos diabéticos, la hiperglucemia es algo más baja que en los normales, pero la recuperación es más tardía, (diabéticos estables).
 - c) en otros diabéticos, la hiperglucemia mínima es inmediata, (10 a 20 minutos) su valor es inferior al 30% del inicial y la recuperación se realiza antes de las 60 minutos, (diabéticos inestables).
- 10-) La prueba del glucagén es innecesaria.
- 11-) La respuesta a la prueba del glucagén puede considerarse como un índice del estado de los depósitos de glucógeno hepático en el momento de la prueba y por lo tanto sería una medida indirecta de la cantidad de insulina circulante.

Rosa J. Tevo

J. Guay

BIBLIOGRAFIA

- 1 - ANDERSON, G. E. - Endocrinol. Mon. - 12: 9, (1954)
- 2 - ANDERSON, G. E. - Lancet - 266: 979, (1954)
- 3 - ANDERSON, G. E. - Diabetes - 3: 462, (1954)
- 4 - ANDERSON, G. E. - Diabetes - 3: 466, (1954)
- 5 - BRATTIE, A. G., BILLING, B. H. y SHERLOCK, S. - Ciba
Colloquia on Endocrinol. - 6: 250,
(1953).
- 6 - BORNSTEIN, J. y LAURENCE, R. D. - Brit. M. J. - 2: 1541,
(1951).
- 7 - ESCOBERO, P. - Trab. y Publ. Inst. Esp. Nutr. - 2: 38,
(1939).
- 8 - FOLIN, O. y WU, H. - J. Biol. Chem. - 41: 367, (1920)
- 9 - FRASER, R. W., ALBRIGHT, F. y SMITH, P. H. - J. Clin.
Endocrinol. - 3: 297 (1949).
- 10 - GOLDNER, H., VOLK, B. W. y LAXANUS, S.S. - Metabolism.
3: 544, (1952).
- 11 - HASKEDORN, H. O. y JENSEN, B. H. - Metabolism. - 11:
46, (1952).
- 12 - HINCHWORTH, H. P. - Lancet - 1: 127, (1956).
- 13 - HUBBLE, D. - Diabetes - 4: 197, (1956).
- 14 - KIRLEY, W. R., WAIFE, S. O., HEINER, O. H. y PECK, F.B.
Diabetes - 2: 345, (1953).
- 15 - KIRLEY, W. R., WAIFE, S.O. y PECK, F.B. - Proc. Soc.
Exptl. Biol. Med. - 83: 387, (1953).
- 16 - KIRLEY, W. R. - Comunicación personal.
- 17 - KIRLEY, W. R. - Comunicación personal.
- 18 - LAXANUS, S. y VOLK, B.W. - J. Lab. Clin. Med. - 39: 404,
(1952).

- 19 - LONG, C. H. K., KATZIN, B. y FRY, E.G. - Endocrinology - 26: 309, (1940)
- 20 - LYMAN, S., NICHOLS, E. y Mc CANN, W. - J. Pharm. Exper. Ther. - 21: 343, (1923).
- 21 - MACLEOD, I. R. - "Carbohydrate Metabolism and Insulin" Londres, (1926).
- 22 - MINSKY, I. A. y PERISUTTI, G. - Reunión de la Am. Chem. Sci. de N. Y., oct/1935.
- 23 - NORDAARD, A. y HESS THAYSEN, T.E. - Acta Med. Scandi-
NORV - 22: 492, (1929).
- 24 - PANK, C. R. y MAUGHADAY, W. H. - Endocrinol. Prog. - 2: 212, (195).
- 25 - ROSNER, J., ABOITIS, A., FERRANSELI, H. R., CANEDA, R. y HUSINOVICH, R. - "Trabajo presentado en el Primer Congr. Mundial. de Med. Interna". (1959).
- 26 - VOLK, B., LARANUS, S. y GOLDNER, H. G. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. - 82: 406, (1953).
- 27 - VOLK, B., LARANUS, S. y LEW, H. - Metabolism - 4: 10, (1955).

I N D I C ECapítulo I

Historia del glucagón: factor hiperglucemiante glucogenolítico del páncreas. Pruebas que demuestran su existencia.	4
Lugar de formación	11
Bibliografía	16

Capítulo II

Purificación y cristalización del glucagón. Propiedades físicas y químicas. Composición molecular	21
Fórmula estructural	26
Ensayos de pureza	31
Bibliografía	32

Capítulo III

Naturaleza hormonal del glucagón	35
Síndrome de deficiencia de glucagón	35
Síndrome de exceso de glucagón	36
La secreción de glucagón en el torrente circulatorio y su regulación	38
Falta de especificidad de especie	42
Destrucción y envejecimiento.	43
Propiedades biológicas y fisiológicas del glucagón	43
Mecanismo de acción del glucagón	45
Importancia clínica del glucagón	51
Bibliografía	54

Capítulo IV

Parte experimental con insulina libre de glucagón y con glucagón libre de insulina. Introducción	65
Revisión de las pruebas de "tolerancia a la insulina" efectuadas con insulina común	67
La prueba de tolerancia con insulina libre de glucagón	69
Datos experimentales	84
Curvas	92
La prueba del glucagón libre de insulina	76
Datos experimentales	104
Curvas	108
Conclusiones finales	113
Bibliografía	115