

R. 2801

T. 206

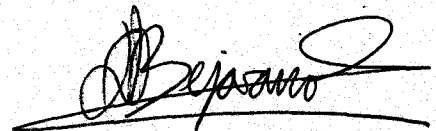
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA ANIMAL DE LA FACULTAD
DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

EFFECTOS DE RESECCIONES INTESTINALES
SOBRE EL PANCREAS ENDOCRINO EN RATAS

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
BIBLIOTECA

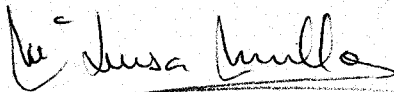
EFFECTOS DE RESECCIONES INTESTINALES SOBRE EL PANCREAS
ENDOCRINO EN RATAS

MEMORIA presentada para
optar al GRADO DE LICEN-
CIADA EN FARMACIA.



Fdo. Dolores Bejarano Roja

Sevilla, Junio de 1.980



El Director.

Deseo expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que han contribuido en la realización de esta Tesina.

A la Dra. Dña Ma Luisa Murillo, por el cariño y entusiasmo con que la ha dirigido y por el constante apoyo que me ha ofrecido a lo largo de su elaboración.

A Don Francisco Murillo y Dña. Ma José Delgado, por la inestimable ayuda que me han dado en todo momento, y la dedicación que me han prestado siempre.

Al Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de Sevilla, por haber puesto a mi disposición su Biblioteca, durante todo el tiempo que ha durado la revisión bibliográfica de este trabajo, y la amable acogida que me han dispensado a lo largo del mismo.

SUMARIO

	<u>Página.</u>
1.- OBJETO.....	1
2.- SITUACION BIBLIOGRAFICA.....	3
2.1.- Páncreas	
2.1.1.- Anatomía.....	4
2.1.2.- Inervación del páncreas....	5
2.1.3.- Islotes de Langerhans.....	5
2.1.4.- Relación entre el páncreas endocrino y el exocrino....	8
2.1.5.- Ultraestructura de los islo tes.....	13
2.2.- Insulina	
2.2.1.- Química.....	18
2.2.2.- Biosíntesis.....	21
2.2.3.- Secreción.....	24
2.2.3.a.- Relaciones molecu- lares: Nucleótidos cíclicos y calcio.....	27
2.2.3.b.- Efectos de la glu- cosa sobre la secreción.....	31
2.2.3.c.- Papel de los amino ácidos.....	34

2.2.3.d.- Efectos de los ácidos grasos y cuerpos cetónicos...	36
2.2.3.e.- Influencia nerviosa....	36
2.2.3.f.- Influencias hormonales.	39
2.2.4.- Destino de la insulina secretada: Transporte y distribución.....	42
2.2.5.- Metabolismo de la insulina.....	43
2.3.- Glucagón.....	46
2.3.1.- Secreción del glucagón.....	47
2.3.1.a.- Efectos de las aminoácidos sobre la secreción.....	48
2.3.1.b.- Ácidos grasos libres...	49
2.3.1.c.- Acción de las hormonas.	49
2.3.1.d.- Regulación nerviosa....	50
2.3.2.- Acciones del glucagón.....	51
2.3.3.- Mecanismos de la acción hiperglu- cemiante.....	54
2.4.- Hormonas gastrointestinales.....	55
2.4.1.- Eje enteroinsular.....	55
2.4.2.- Definición de incretina.....	56
2.4.3.- Localización de las hormonas gastrointestinales.....	58
2.4.4.- Concepto APUD.....	59

2.4.5.- Clasificación de las células.....	62
2.4.6.- Clasificación de los péptidos....	63
2.4.7.- Mecanismos de secreción.....	64
2.4.8.- Relación de las hormonas gastroin- testinales y sus efectos sobre el páncreas endocrino.	
A.- Hormonas circulantes:	
A.1.- Gastrina.....	66
A.2.- Secretina.....	68
A.3.- CCK-PZ.....	70
A.4.- GIP.....	72
A.5.- Polipéptido pancreático.....	76
A.6.- Enteroglucagón.....	77
B.- Péptidos comunes al cerebro e intestino.	
B.1.- VIP.....	78
B.2.- Neurotensina.....	79
B.3.- Sustancia P.....	80
B.4.- Somatostatina.....	80
3.-MATERIAL Y METODO.....	82
3.1.- Animales.....	83

	<u>Página</u>
3.2.- Dietas	83
3.3.- Preparaciones quirúrgicas.....	83
3.3.1.- Resección intestinal.....	84
3.4.- Postoperatorio y mantenimiento de los animales.....	86
3.5.- Desarrollo de los experimentos.....	87
3.5.1.- Determinación de la fase del ciclo estral.....	87
3.5.2.- Glucosa en suero.....	89
3.5.3.- Glucosa en orina.....	90
3.5.4.- Valor hematocrito.....	91
3.6.- Determinaciones analíticas	
3.6.1.- Glucosa en suero.....	93
3.6.2.- Glucosa en orina.....	94
4.- RESULTADOS.....	96
4.1.- Cantidades máximas de glucosa en orina..	97
4.2.- Concentración de glucosa en sangre.....	100
4.3.- Valores de glucosa excretada en orina a lo largo de cinco días.....	103
4.4.- Flujos de orina durante cinco días.....	106
4.5.- Concentraciones de glucosa en orina durante cinco días.....	106 a

1.- OBJETO

	<u>Página</u>
4.6.- Valores hematocrito.....	109
5.- DISCUSION DE RESULTADOS.....	114
5.1.- Glucemia y glucosuria.....	115
5.2.- Hematocrito.....	120
6.- RESUMEN Y CONCLUSIONES.....	121
7.- BIBLIOGRAFIA.....	124

El estudio de la relación entre hormonas gastrointestinales y páncreas endocrino se ha desarrollado mucho en los últimos años, y si bien es verdad que los trabajos publicados son muy numerosos, no es menos cierto que quedan aún bastantes problemas sin resolver y que, actualmente, nos movemos mucho en el campo de las hipótesis y las suposiciones.

Otro aspecto de la Fisiología que, hasta ahora prácticamente estaba abandonado y al que, sin embargo, en la actualidad se le está dando bastante importancia, es a la relación existente entre páncreas endocrino y exocrino.

Como inicio de un estudio muy ambicioso que pretendemos desarrollar en los años venideros y, basándonos en los hechos siguientes:

a) La exclusión de parte del intestino delgado priva al organismo de las hormonas intestinales que se produjeran en ese tramo y, por tanto, del efecto que esas hormonas producen sobre el páncreas endocrino.

b) La exclusión de parte del intestino delgado altera la producción de enzimas pancreáticos (411), lo que indica que hay una disminución en la secreción del páncreas exocrino, disminución que, hipotéticamente, también puede producir un deterioro del páncreas endocrino,

nuestros experimentos se han centrado en la determinación de los cambios de los niveles de glucosa en sangre y orina en ratas intactas y ratas con exclusión de un 50 % o de un 80 % de intestino delgado, a partir de la válvula ileocecal y en dirección craneal.

De esta forma, mientras a las ratas con resección del 50 % prácticamente sólo se les priva del íleon, a las del 80 % se les quita casi el yeyuno, lugar que parece ser el más implicado en el eje entero-insular, dentro de las distintas partes en que se puede considerar dividido el tramo gastrointestinal.

De este modo, podemos hacer un estudio comparativo de la influencia que el 50 % u 80 % distal poseen sobre la regulación del páncreas endocrino.

2.- SITUACION BIBLIOGRAFICA

2.1.- Páncreas.

2.1.1. Anatomía.

En la rata, el páncreas se extiende fundamentalmente por tres partes:

- a) Recubriendo los vasos esplénicos, llegando desde el bazo a la aorta.
- b) Junto a la curvatura mayor del estómago.
- c) Unida íntimamente al marco duodenal.

Existen algunas especies en las que el conducto biliar se une al conducto pancreático, formando un conducto común, que transporta jugo pancreático y bilis hasta el duodeno, como ocurre a la rata, oveja, cabra y ciervo.

Pero en la rata existen, además, otros conductos pancreáticos más pequeños, que entran directamente en el duodeno.

El tejido glandular aparece durante el tercer mes de vida intrauterina y se desarrolla a partir de brotes laterales de los conductos y sus ramificaciones. El tejido acinoso se mantiene conectado con el sistema de conductos y forma la porción exocrina del páncreas.

Además hay pequeños islotes de células, que pro

liferan desde los conductos, se diferencian, pierden su conexión con el sistema de conductos y se transforman, finalmente, en la porción endocrina del órgano.

2.1.2. Inervación del páncreas.

Las fibras nerviosas autónomas que inervan el páncreas lo hacen a través de los plexos celíacos y hepáticos, por los nervios esplácnicos, y por el nervio vago, estando las terminaciones nerviosas en contacto directo con las células (160).

2.1.3. Islotes de Langerhans.

La parte endocrina del páncreas está constituida por los islotes de Langerhans, descubiertos por primera vez en 1.869, cuando Paul Langerhans publicó una tesis doctoral, en la que analizaba la anatomía microscópica del órgano, y observó que existían unos pequeños grupos de células, que no contenían gránulos de zimógeno, las cuales pensó que podrían estar relacionadas con el sistema nervioso.

Sin embargo, la importancia y verdadera significación de este descubrimiento no llegó hasta 1.893, año en que Laguesse pensó en la posibilidad de que esas células produjeran una secreción interna, dándoles entonces el nombre de su descubridor, con el que hoy se las conoce (9).

Los islotes forman conjuntos celulares ovoides de 75 por 175 micras, aproximadamente, (57) y aparecen distribuidos irregularmente en el tejido pancreático de los mamíferos, aunque proporcionalmente la cola del páncreas tiene mayor número. El tejido insular constituye, aproximadamente, del 1 al 3 % de la masa pancreática total, que puede ser de 1,5 gramos en ratas de 300 gramos (57)(62)(142).

El número en el que se presentan y el tamaño varían mucho, aún en la misma especie; en el cobaya puede haber desde 15.000 hasta 40.000, mientras que en el páncreas humano se ha hablado de 2.300.000. En cuanto al tamaño, en la rata se presenta una característica difícilmente explicable, y es que miden, aproximadamente, lo mismo que en el hombre.

Los islotes de Langerhans surgen a partir del

epitelio del conducto pancreático y con frecuencia mantiene conexión con las delicadas expansiones de éste que invaden el órgano completo. Un carácter relacionado con su función endocrina es su circulación sanguínea, extraordinariamente abundante, con vasos capilares o sinusoides adosados a los cordones irregulares en que están situadas las células de los islotes. La sangre de los islotes, a semejanza de la del tubo digestivo, pero a diferencia de la de cualquier otro órgano endocrino, se vierte en la vena porta. Esto favorece la eliminación de su secreción y facilita una respuesta directa de las células frente al nivel de glucosa en la sangre, aunque no se puede excluir totalmente el que intervengan reflejos nerviosos.

La primera dificultad que se encontró para relacionar la estructura pancreática con la diabetes al estudiar con detalle los islotes, fue la imposibilidad de precisar si constituían un tejido independiente, o bien eran etapas del desarrollo o degeneración de las células de zimógeno. En este problema se centraron gran parte de las investigaciones histológicas.

Al iniciarse este siglo ya se contaba con prueba

bas abundantes de que las células de los islotes tenían características propias, y en 1.900, Schulze dedujo que tenían que ser estructuras independientes, al comprobar que no se alteraban cuando degeneraba el tejido de zimógeno como consecuencia de haber ligado las zonas periféricas del páncreas de cobaya.

2.1.4. Relación entre el páncreas endocrino y exocrino.

No es fácil comprender por qué quedó el tejido endocrino fragmentado en islotes. Quizá se explique esto por la gran área superficial que existe entre los tejidos endocrino y de zimógeno, ya que esto hace suponer que existe alguna relación metabólica importante entre ambos. Sobre la misma, sólo se pueden hacer suposiciones. Es posible que la insulina y/o el glucagón faciliten de alguna manera la actividad sintética de las células de zimógeno; la insulina, por ejemplo, podría favorecer la incorporación de aminoácidos a su secreción proteica.

Goberna y colaboradores (65), con el fin de

relacionar las funciones endocrina y exocrina del páncreas, realizaron una serie de experimentos en los que quedaba claro que la ausencia de páncreas exocrino modificaba la acción de la secretina sobre el páncreas, en el sentido de que, mientras aumentaba notablemente la secreción de insulina en animales que tenían íntegra la parte endocrina de la glándula, no lo hacía en aquellos a los cuales se les había producido una atrofia artificial de la parte exocrina.

Se ha comprobado que la insulina aumenta la amilasa pancreática y la síntesis de proteínas totales (2), pero no interviene en el transporte de aminoácidos en las células exocrinas (34).

En este mecanismo se supone que interviene una hormona gástrica que actúa a modo de control (28). Asimismo, en estados de hipoglucemia, la insulina conduce a un aumento de la secreción de enzimas pancreáticas (72).

Se ha estudiado en ratas normales y diabéticas las isoenzimas y la actividad de la alfa-amilasa en

páncreas y en plasma y se ha comprobado que la actividad de la alfa-amilasa pancreática muestra una significativa disminución en los animales diabéticos (80 % en machos y (63 % en hembras). Sin embargo, la actividad amilásica en el plasma no varía. Por esta razón se supone que la inulina afecta al metabolismo de la amilasa en el páncreas. Además, se ha visto que existen algunas diferencias en la distribución de isoenzimas, electroforéticamente estudiadas, en ratas normales y diabéticas, lo que sugiere que la insulina puede también actuar sobre las fuentes extra pancreáticas de amilasa, todo lo cual viene a unirse a las pruebas sobre la existencia de una interrelación entre páncreas endocrino y exocrino (145).

Según Banks (6), entre páncreas endocrino y exocrino existe una relación a través de un determinado número de vías, sistemas o ejes, la mayoría de ellos parcialmente descubiertos, que plantea una duda que hay que clarificar sobre el papel fisiológico de esta sorprendente y aguda interrelación entre hormonas, acinis e islo - tes pancreáticos en estados de salud. Existiendo estados patológicos con alteraciones evidentes acinares, en las que esa disfunción alcanza a las células A, B, e incluso D.

Ebert (41) en 1.976, desarrolló la hipótesis de la existencia de una relación entre la insuficiencia del páncreas exocrino y la del endocrino en la pancreatitis crónica.

Esta hipótesis fue corroborada posteriormente en 1.979 por Costa y col. (27), al analizar la correlación que existe entre la función del páncreas exocrino y la reserva insulínica. Resultando significativos los datos obtenidos en pacientes que, al tener reducida la función exocrina, presentaban, a su vez, una disminución de la reserva insulínica.

También en sujetos que presentan daño grave del parénquima del páncreas exocrino, se ha observado en exámenes histológicos una hipertrofia e hiperplasia del islote pancreático (54).

Por otra parte, Harano et al. (71), en 1.978, al estudiar la función pancreática externa de pacientes con diabetes mellitus, llegan a la conclusión de que la insulina juega un importante papel en la función pancreática exocrina, y que las disfunciones exocrinas frecuente

mente vistas en diabéticos, son secundarias a un desarreglo metabólico, que puede describirse mejor con el nombre de pancreatopatía exocrina diabética. Esta deficiencia exocrina en la diabetes mellitus ya había sido vista anteriormente por Youngs (169), quien, a su vez, también sugería una estrecha relación entre células acinares e islotes.

A la misma conclusión llegaría Frier, (49), más tarde, estudiando pacientes con diabetes mellitus de tipo juvenil.

Kork et al. (91), han encontrado receptores con una gran afinidad por la insulina en las células acinares pancreáticas, por lo que suponen la hipótesis de que la insulina puede regular directamente funciones específicas del páncreas exocrino, mientras que las investigaciones hechas por Pedrazzoli et al. (123), sugieren que la insulina puede tener un papel en la estimulación del páncreas exocrino a través de la secretina, ya que el diazóxido (conocido inhibidor de la insulina) inhibe la respuesta a la secretina del páncreas exocrino en ratas sin anestesiar y, sin embargo, no modifica la secreción

conseguida por estimulación con CCK-PZ.

Por último, diremos que se ha comprobado que el glucagón tiene "in vivo" una acción inhibidora de la secreción pancreática exocrina (32).

2.1.5. Ultraestructura de los islotes

A nivel microscópico, los islotes de Langerhans se encuentran rodeados de tejido acinar, correspondiente a la glándula exocrina (79).

Los trabajos más actuales, utilizando microscopio electrónico, han servido para identificar perfectamente cuatro tipos de células en los islotes de Langerhans. Las células A, secretoras de glucagón, que están normalmente en una proporción de un 15 a un 30 % (62)(160), las B, que segregan insulina y forman el 75 % de los islotes humanos y, aproximadamente, el 60 % en los roedores, las D, que segregan somatostatina y se encuentran en cantidad del 1 al 8 %, y, por último, las PP, que no tienen gránulos (44) y son secretoras de polipéptido pancreático, también llamado hormona polipeptídica pancreática, de función todavía no muy clara(59)(113)(124) y(136).

Por medio de estudios comparativos se ha visto que el modelo de disposición de estas células en los islotes es característico, generalmente, en los vertebrados. Parece que, en los mamíferos, los distintos tipos de células aparecen siempre con diferencias solamente en cuanto a detalles en esa disposición. Pueden estar todas mezcladas sin orden, como en el cobaya; o en ocasiones mostrar un cierto grado de separación, como en la rata y el conejo, en los cuales las células A son las situadas más en la periferia, formando un borde de una a tres células de espesor (160) y las B se agrupan en el centro (160).

En el hombre, filas de células A y D se proyectan hacia una masa central de islotes a lo largo de los ejes de los capilares, formando lobulaciones en las que las células A y D permanecen en la periferia, en relación con un conjunto central de las células B. En los islotes localizados en el área paraduodenal (cabeza del páncreas), las células A periféricas, que contienen glucagón, aparecen reemplazadas por células que contienen el polipéptido pancreático (PP) (160).

Entre la capa externa de células A hay células D.

Las células A y B representan un sincitio en donde una señal específica para un tipo de célula origina una respuesta funcional indirecta de otras. De este modo, se encuentran intervalos de unión entre células A y B (62)(117), que se suponen con el suficiente tamaño para permitir el transporte de nucleótidos, metabolitos energéticos e iones, transporte todavía no bien demostrado.

Es probable que esta misma clase de uniones existan entre otros tipos de células del islote, por ejemplo, entre las D y las A o las B, formando así un sincitio funcional de células insulares. También parece que existe relación entre las D y las PP (136).

No obstante las diferencias con respecto al número relativo de células y a su distribución dentro de los islotes, en todas las especies estudiadas se ha identificado una región heterocelular en la cual las células A o PP, D y B están en estrecha proximidad (115)

Esta región, que en el hombre y en la rata está a lo largo de la periferia del islote (160), puede tener una función especial, puesto que por ella entran vas

sos aferentes y nervios autónomos. En vista de las posibles comunicaciones intercelulares (paracrinas) (160) e intracelulares (intervalos de unión) (62) (117), el área heterocelular puede funcionar como una pauta a seguir por el islote entero, de modo que la información recibida desde fuera se transmitiera, partiendo de esta zona, hacia otras células, a través de uno o ambos de estos mecanismos de comunicación.

Orci y Unger (115) sugieren que la distribución de las células en los islotes es importante, tanto en el funcionamiento normal, como en el patológico, del mismo.

En otros estudios ultraestructurales sobre los islotes de Langerhans, se ha visto también, que en las terminaciones nerviosas de rata, hamster, perro y vaca hay, aparte de numerosas mitocondrias, tres tipos de vesículas (129).

En el hombre, además, se conoce la ultraestructura de los capilares y de las células intersticiales de los islotes (167) y también se ha comprobado, por técnicas

immunocitoquímicas, la inervación del páncreas (tanto endocrino, como exocrino,) por nervios inmunoreactivos al polipéptido intestinal vasoactivo (VIP), en muchas especies, lo que demuestra, como se verá más adelante, que es esta sustancia ejerce unos determinados efectos sobre la glandula. (92) y(151).

2.2.- Insulina.

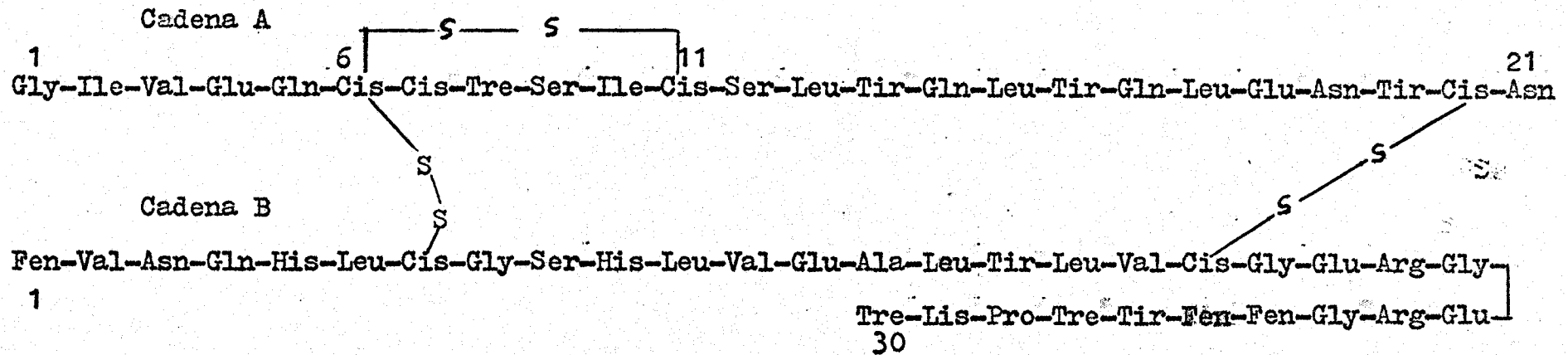
2.2.1. Química.

Se ha demostrado que la insulina es una proteína de un tamaño relativamente pequeño (Peso molecular, aproximadamente, de 6000), formada por dos cadenas polipeptídicas, una cadena corta, con 21 restos, la A, y otra más larga, con 30 aminoácidos, la cadena B. Ambas están unidas por dos enlaces disulfuro, (-S-S-), provenientes de dos restos de cistina, con un tercer enlace de este tipo formando un puente interno en la cadena A. Estos puentes disulfuro, que intervienen en la formación de la estructura terciaria de la molécula, son básicos para su actividad biológica, para la cual también parece ser importante la asparaguina final de la cadena A (12).

La esterificación de los grupos carboxilo disminuye la actividad fisiológica y los grupos amino libres pueden, no obstante, acetilarse, sin que la actividad se modifique (157).

Se cree ahora, que las partículas de insulina detectables al microscopio electrónico en los gránulos de

Figura 1 : Molécula de insulina humana



Variaciones en la secuencia de aminoácidos en la insulina:

	<u>Especie</u>	<u>Cadena A</u>	<u>Cadena B</u>
Fig. 2	Hombre	Glu Thr Ser Ile -	Asn Lys Thr
	Rata 1	Asp Thr Ser Ile -	Lys Lys Ser
	Rata 2	Asp Thr Ser Ile -	Lys Met Ser
		4 8 9 10	3 29 30

las células B, son hexámeros, con seis moléculas situadas en torno a los iones Zn que se necesitan para su cristalización. Pero, sin embargo, la hormona circula en la corriente sanguínea como una mezcla de monómeros y dímeros (Fig A

La determinación de la estructura primaria de la hormona tiene poco valor en orden a determinar las características estructurales que son responsables de la actividad biológica, ya que la importancia crítica para su funcionalidad radica en sus estructuras secundaria y terciaria.

El estudio de las variaciones en la secuencia peptídica de las diversas hormonas naturales, ha ayudado mucho a identificar las actividades de una organización de tal complejidad, siendo interesante hacer notar, que los aminoácidos no variables en las distintas especies, parecen intervenir en el establecimiento de una relación correcta entre las cadenas A y B (157).

En los mamíferos, son pocos los cambios en la secuencia, afectando a las posiciones 4, 8, 9 y 10 en la cadena A, y a las posiciones 3, 29, y 30, en la B (9). (Figura 1).(y 2).

Es evidente que existe en la estructura una cierta especificidad de especie, pero no aparece con claridad una relación de tipo filogenético. Pero no cabe duda de que se pueden encontrar secuencias idénticas en algunas especies cuya relación filogenética no es muy próxima. El cobaya es una excepción notable a esta estabilidad general de los mamíferos, pues en él varía la posición de, al menos, 17 aminoácidos, lo que tal vez pueda explicar que este animal sea tan buen productor de anticuerpos contra la insulina (157).

Una característica particularmente interesante desde el punto de vista de la evolución molecular, es que la rata tiene dos insulinas, una de las cuales tiene lisina en la posición 29 de la cadena B, mientras que la otra tiene metionina en ese lugar. Encontrándose estos dos tipos de insulina en todas las ratas estudiadas (Figura 2).

Se puede suponer que la sustitución de aminoácidos en moléculas polipeptídicas afectarán a propiedades de las mismas. En realidad, su influjo en la insulina es menor de lo que cabría esperar en principio, pero con todo, aparece tanto en su actividad inmunológica, como en

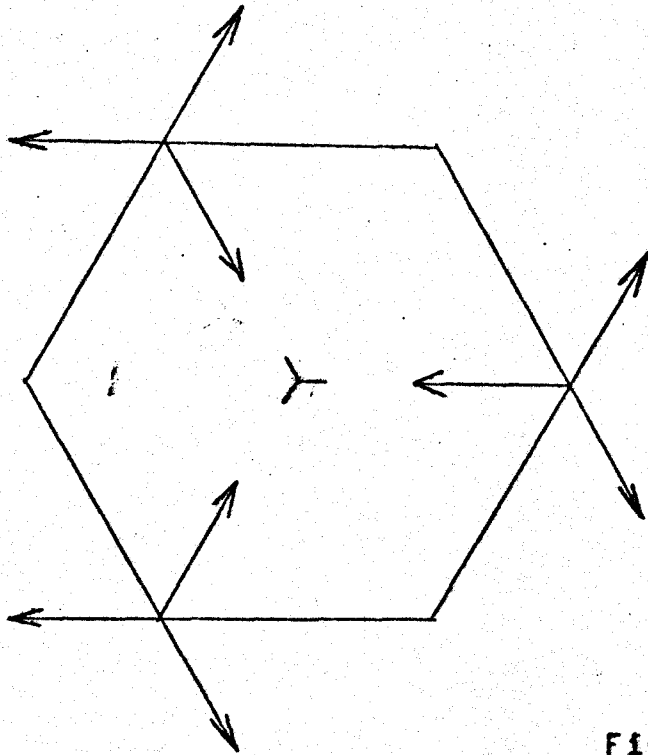
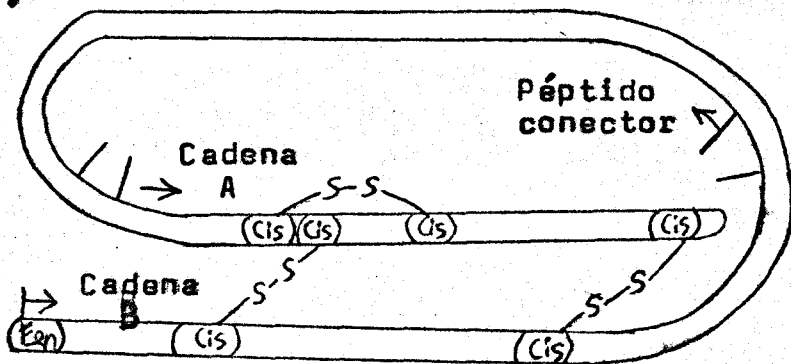


Figura A.

HEXAMERO DE INSULINA

Tomado de: GOBERNA, R. (65)



PROINSULINA HUMANA

Tomado de: GANONG, W. (56)

Figura B.

sus propiedades biológicas.

La insulina, como otras proteínas, puede actuar como antígeno, provocando la formación de anticuerpos en la sangre de animales no adaptados al tipo concreto que se les administra, aunque en este caso, la hormona es un antígeno suave que, no obstante, origina la aparición de anticuerpos en pacientes que han recibido grandes dosis.

La antigenicidad de la molécula depende, sin duda, de la estructura terciaria, puesto que desaparece en gran medida cuando se separan las cadenas A y B (9).

2.2.2. Biosíntesis.

La molécula de insulina se sintetiza como una cadena grande y única, denominada proinsulina, que es doblada en la célula B, formándose los enlaces disulfuro.(Fig B)

Este péptido está constituido por unos 73 residuos de aminoácidos ($P_m = 9000$), y contiene los dos enlaces disulfuro entre las cadenas A y B, además de una molécula polipeptídica que conecta las dos cadenas, llama-

da péptido conector o péptido C. Este péptido de enlace es necesario para que se dé el dobléz apropiado, sin el cual la formación de los puentes disulfuro sería difícil.

La proinsulina fue aislada por Steiner y col. (65) en 1970 y en ella se observa cierta relación cruzada con los anticuerpos anti-insulina, así como una actividad biológica equivalente a una proporción que va del 15 al 20 % de la que muestra la insulina. El estímulo representado por la glucosa, produce la liberación por el páncreas de pequeñas cantidades de proinsulina; la relación entre proinsulina e insulina en la hormona liberada, tiende a aumentar paralelamente a la duración del estímulo que produce la liberación de insulina.

Usando técnicas específicas de radioinmunoensayo, se vió que también se liberaba péptido C, junto con la insulina y la proinsulina, lo que confirma la hipótesis de que el desdoblamiento tiene lugar dentro del gránulo de almacenamiento (157).

El péptido C, normalmente, es eliminado por fragmentación proteolítica, antes de que la insulina se

segregue en su forma biológicamente activa (65) (86). Consiste en unos 22 residuos de aminoácidos, con poca acción insulínica, si es que alguna. En el hombre, el peptido conector tiene 31 aminoácidos y se segrega desde la célula B en cantidades equimoleculares con la insulina, aunque se metaboliza en proporciones diferentes, pudiéndose detectar en la circulación periférica (83). Asimismo, también puede detectarse en orina.

Hasta ahora, no se tiene una respuesta clara a la cuestión de la necesidad de la transformación de la proinsulina en insulina para ejercer su efecto biológico, y nadie ha podido demostrar, todavía, si esta transformación es en la proinsulina circulante, o a nivel tisular. El hecho de que la insulina pueda ejercer efectos fisiológicos, incluso cuando está unida a grandes masas de polímeros artificiales, hace pensar que, tal vez, no sea indispensable que se libere de la proinsulina para actuar como hormona (157).

También se han podido encontrar dos proteínas mayores que la proinsulina (Pm 10.000 y 11.000), en páncreas de rata, que se segregan antes que la proinsulina

y cuya síntesis es estimulada por glucosa, las cuales serían precursores de la proinsulina; estas dos proteínas se unen específicamente con anticuerpos anti-insulina (126).

2.2.3. Secreción.

La secreción de insulina es el último resultado de una serie de fenómenos intracelulares: síntesis de prohormona en el retículo endoplásmico (56) (62), transporte de prohormona al aparato de Golgi (62), formación y maduración de los gránulos, acompañada de la conversión de prohormona en hormona, y, por último, movimiento o transformación de vesículas secretoras hasta una forma lábil, provechosa para la descarga.

El transporte de los gránulos de secreción hasta la membrana celular se realiza por la acción sinérgica de una red constituida por microtúbulos y microfilamentos (102).

La glucosa afecta a varios de estos procesos de la célula B. Aumenta la síntesis de proinsulina en los niveles de transcripción y traslación e incrementa la ac-

tividad del aparato de Golgi y la formación del gránulo en este orgánulo (62).(102).

El mecanismo de salida de la insulina de la célula B se ha establecido que es por exocitosis o emecitosis, es decir, liberación del gránulo al espacio intercelular(35),(76),(82)(102),(116),(128) y (132).

A continuación la insulina debe cruzar las membranas basales de la célula B y de un capilar vecino, así como el endotelio fenestrado del capilar para llegar a la corriente sanguínea. Sin embargo, se ha encontrado en islotes agotados por tolbutamida, un alto porcentaje de insulina en el citosol, lo que sugiere que pueda también producirse una liberación no granular (62).

La cinética de la liberación de insulina se ha revisado en detalle a partir de 1975. El páncreas, cuando se estimula por una concentración intravenosa constante de glucosa o leucina (62) segrega insulina de una forma bifásica (14). Las dos fases de la descarga de insulina reflejan distintos fenómenos, aunque probablemente relacionados. La segunda fase es inhibida por puromicina, dinitrofenol, oligomicina y diazóxido, en concentraciones

selectivas que no afectan a la primera fase. Esta, a su vez, es selectivamente estimulada por sulfonilureas, potasio y secretina (62).

Las respuestas características de la secreción de insulina al estímulo de glucosa son:

1.- Un máximo inmediato, que se presenta rápidamente tras la estimulación con este carbohidrato.

2.- Un aumento progresivo de la concentración mientras dura el estímulo.

El tiempo requerido para la liberación en la primera fase es finito (31), varía con el agente estimulador y, comparativamente, es lento para la glucosa (de 1 a 3 minutos), disminuyendo con una infusión previa de glucosa de una concentración subumbral (62).

Algunos investigadores piensan que la insulina total está dividida en dos compartimentos, el primero fácilmente accesible, para respuestas agudas, y el segundo, más propio de una liberación prolongada (62) (95).

Cuando se relacionan, pues, las concentraciones de glucosa con la respuesta insulínica, la representación gráfica es una curva sigmoidea y la respuesta no es lineal. Esto demuestra que la célula B es muy sensible a determinadas concentraciones de glucosa. Concretamente, el ascenso rápido de la curva corresponde a concentraciones entre 120 y 300 mg %. Por debajo de 120 mg%, la respuesta es escasa (valores basales) y por encima de 300 mg%, el aumento de la secreción es lento. Según Goberna (65), este comportamiento alostérico dependiente de la concentración de la glucosa en la célula B tiene dos mecanismos; uno que depende de la concentración de glucosa en el medio (a más glucosa, más secreción) y otro, que depende de una determinada concentración de glucosa (entre 120 y 300 mg%). El primero daría una respuesta lineal y el segundo, la rama ascendente de la curva sigmoidea.

2.2.3.a. Relaciones moleculares: Nucleótidos cíclicos y calcio.

Existen estudios in vitro que demuestran la intervención del AMP cíclico en la liberación de insulina, tanto para aumentarla, como para disminuirla. Análisis de

adenil-ciclase, fosfodiesterasa y niveles de AMPc en los islotes reflejan, presumiblemente, cambios en la célula B y pueden tener una correlación con la secreción de insulina (86).

AMPc y GMPc se asocian con una modulación positiva de la secreción de insulina, aunque, sin embargo, han sido subrayados efectos opuestos de estos nucleótidos en otros sistemas (62). En homogeneizados de islotes se han encontrado adenilciclase y guanilciclase (6)(62).

Los receptores hormonales encontrados en la superficie de los islotes aparecen relacionados con un control de nucleótidos cíclicos, concretamente, los que sirven para el glucagón y varias hormonas peptídicas gastrointestinales (45).

Inicialmente, no se pensó que la glucosa regulara directamente a los nucleótidos cíclicos, o que alterara la adenilciclase, fosfodiesterasa, niveles de AMPc o AMPc dependiente de proteinquinasa(18) (62). Algunos estudios más recientes (62) (160), indican que la glucosa eleva los niveles totales de AMPc del islote.

Estos estudios indican que la glucosa que induce una elevación del AMPc, puede estar causalmente relacionada con la secreción de insulina por varios motivos:

a) La elevación de AMPc tiene lugar segundos después de la estimulación, siendo paralela con la secreción.

b) Después de que el estímulo con glucosa desaparece, la secreción y el AMPc vuelven a sus valores umbrales con similar cinética.

c) Las curvas de dosis-respuesta para el AMPc y la secreción de insulina son idénticas durante todo el intervalo de concentraciones de glucosa fisiológicas.

d) El aloxano inhibe, concomitantemente, la glucosa que induce el aumento de AMPc y la secreción de insulina.

e) El anómero alfa de la glucosa acrecienta la elevación de AMPc y la secreción y, sin embargo, el anómero beta es mucho menos efectivo para ambos sucesos.

Se ha comprobado que el ATP interviene en la liberación de la hormona (35), aumentando la secreción de ésta en presencia de glucosa (100) y de iones Ca^{+2} (35).

Asimismo, se precisa de iones K^{+} y Ba^{+2} .

El Ba^{+2} induce la liberación de insulina de una forma que depende de la acumulación del mismo en la célula B. Su transporte hacia el interior de la misma es de tipo competitivo entre él, iones Ca^{+2} e iones Mg^{+2} . Hay autores que presuponen que la liberación de insulina puede ser disparada por la acumulación de los cationes divalentes apropiados en un lugar crítico de la célula B (149).

En cuanto al Ca^{+2} , se ha comprobado que es el catión predominante en las estructuras que intervienen directamente en la secreción de insulina (gránulos y membrana celular) (78).

Muchos autores sugieren que la presencia del Ca^{+2} en el interior de la célula B se requiere para que la glucosa pueda disparar la liberación de insulina, que por sí sola sería insuficiente (35) (77) y que las modificaciones en los niveles de Ca^{+2} en plasma actúan sobre la glucosa que estimula la liberación hormonal (125) e incluso Malaisse y col. (103), sugieren que, en ausencia de glucosa, el Ca^{+2} tiene una acción insulínica.

Basados en la dinámica del Ca^{+2} en el islote,

se han propuesto diversas hipótesis en las que el Ca^{+2} intracelular regularía la liberación de insulina, lo que concuerda con el hecho de que la glucosa aumenta el flujo hacia el interior de la célula y lo inhibe hacia afuera (62), (75), (78), (104) y el AMPc aumenta la secreción por aumento del Ca^{+2} intracelular almacenado.

Distintas pruebas realizadas sugieren que la glucosa induce realmente cambios en el Ca^{+2} intracelular (78). El Ca^{+2} extracelular también tiene un papel secretor, aunque más complejo.

2.2.3.b. Efectos de la glucosa sobre la secreción.

La concentración de glucosa sanguínea es el mecanismo individual más importante de la regulación de la secreción de insulina. Hay un efecto directo de retroalimentación de la concentración de la glucosa sanguínea sobre las células de los islotes, las cuales, por su parte, son muy permeables a este sustrato, siendo el índice de penetración de la glucosa en las células de los islotes pancreáticos independiente del contenido de insulina de

éstos. Un nivel elevado de glucosa en la sangre que riega el páncreas, estimula la secreción de insulina por las células B, por lo que la sangre venosa que abandona el órgano contiene una mayor concentración de la hormona y este efecto, a su vez, aminora la concentración de glucosa sanguínea. Por el contrario, el nivel sanguíneo de glucosa normal o la disminución de éste, inhibe la secreción de insulina, con lo que la glucemia se eleva.

Esta retroregulación iniciada por la concentración de glucosa en sangre, constituye un mecanismo homeostático muy sensible en el individuo normal, mediante el cual se regula la secreción de insulina dentro de unos muy estrechos límites de tolerancia. De este modo, tanto los niveles de insulina, como los de glucosa sanguíneas se integran unidos en forma dinámica en situaciones fisiológicas. Por lo antes dicho, la concentración de insulina en el torrente sanguíneo en cualquier momento, depende de un balance entre la tasa de secreción de insulina de las células B insulares y de su índice de eliminación de la sangre, así como de su inactivación por los distintos tejidos de la economía. En la diabetes falla este mecanismo regulador, por lo que la homeostasis de la concentración de

glucosa en sangre está alterada.

Pero sólo la glucosa no regula los niveles de insulina durante el ayuno, pues muchos otros agentes que consiguen un pequeño aumento en la secreción de la hormona, tienen una acción más efectiva en presencia de una pequeña concentración de glucosa. Por ello son importantes los niveles bajos de glucosa, que aunque "per se" no son capaces de estimular la secreción de insulina, sí modifican la respuesta de la célula B a otros estímulos.

Price ha obtenido evidencias directas de la existencia de un receptor para la glucosa mediante experimentos realizados con fracciones de membranas y distintos azúcares. (62)

Otros carbohidratos diferentes de la glucosa también tienen cierto efecto en la secreción pancreática de insulina. Así, la manosa y la fructosa, estimulan la secreción de la hormona.

Aunque la insulina facilite la entrada de la D-xilosa, L-arabinosa y galactosa al interior de las cé-

lulas, en general ninguno de estos carbohidratos estimula directamente la secreción de insulina.

La glucosa 1-P y la glucosa 6-P no desencadenan la secreción de insulina "in vitro", pero ambos metabolitos inhiben la liberación de la hormona mediada por la glucosa, confirmando la idea de que los glucorreceptores están capacitados para detectar una pequeña modificación estructural. Asimismo, la mannoheptulosa inhibe la secreción de insulina mediada por la glucosa (65).

2.2.3.c. Papel de los aminoácidos en la secreción.

Ciertos aminoácidos pueden estimular la secreción de insulina y esta capacidad varía según la especie. Así, mientras en el hombre el más potente es la arginina, seguida por la lisina y la leucina (65), en el perro, son triptófano, leucina, aspártico e isoleucina (62).

In vitro, en ausencia de glucosa, la Arg y otros aminoácidos estimulan la liberación de insulina de una forma monofásica (60) (62), no obstante, la adición

de pequeñas cantidades de glucosa, da como resultado una secreción bifásica (60).

Cuando se utilizan análogos no metabolizables de Leu y Arg, se estimula la secreción de insulina, lo cual sugiere que los aminoácidos pueden disparar la secreción de la hormona insular mediante la unión a receptores de membrana (62).

In vitro, los aminoácidos a concentraciones fisiológicas tienen un efecto muy pequeño sobre la liberación de insulina, por tanto se piensa que, fisiológicamente, los aminoácidos ejercen un mayor control sobre las células A que sobre las B de los islotes. Pero como la adición de pequeñas cantidades de glucosa, aumenta la respuesta de insulina a los aminoácidos, mientras que disminuye la del glucagón, se puede afirmar que los aminoácidos, en presencia de glucosa, tienen un importante papel en la liberación diferencial de ambas hormonas (96).

Por otra parte, es interesante observar que la insulina por sí misma estimula la incorporación de aminoácidos a las proteínas. (69).

2.2.3.d. Efectos de los ácidos grasos
y cuerpos cetónicos.

Los lípidos pueden modificar la secreción de insulina por la célula B y los ácidos grasos libres de cadena corta (propionato, butirato y octanoato) o larga (acetoacetato, por ejemplo) estimulan la secreción de dicha hormona en presencia de concentraciones basales de glucosa (65).

Los datos obtenidos en el análisis del efecto de los cuerpos cetónicos sobre la secreción insulínica no son del todo coincidentes, y, posiblemente, la función de los cuerpos cetónicos sea asegurar una liberación mínima de insulina en el ayuno prolongado, capaz de evitar la gravedad de la cetoacidosis (62).

2.2.3.e. Influencia nerviosa.

Las células de los islotes de Langerhans están profusamente inervadas por fibras nerviosas autónomas, tanto colinérgicas, como adrenérgicas (169), que se encuentran

en su periferia (65) y, tanto el Sistema nervioso Simpático, como el Parasimpático, son capaces de modular el páncreas endocrino (62). La noradrenalina y adrenalina son potentísimos inhibidores de la secreción de insulina,(4), (62)(160), pero por el contrario, la acetilcolina, aumenta la secreción insulínica, anulándose este efecto por la atropina. (16),(65),(89),(146) y (168).

Se ha comprobado que fármacos antagonistas de las sustancias alfa-adrenérgicas, invierten la inhibición de la secreción de insulina conseguida por la adrenalina y la noradrenalina, y que los inhibidores de los estimulantes de receptores beta-adrenérgicos hacen desaparecer la estimulación de la secreción de insulina obtenida por los agentes beta-adrenérgicos.

Es decir, que la liberación de insulina es incrementada por estimuladores beta-adrenérgicos e inhibida por los alfa-adrenérgicos.

Dado los efectos de estas catecolaminas mencionadas, y su acción sobre los receptores adrenérgicos, se piensa que las células B pueden tener, predominantemente

temente, receptores alfa-adrenérgicos y, por el contrario, las células A tienen una gran cantidad de receptores beta-adrenérgicos (puesto que la liberación de glucagón es estimulada por adrenalina y noradrenalina (62)).

Algunos autores (106) (110), indican una modulación de la secreción hormonal pancreática a través del sistema Nervioso Simpático, y Frohman y Bernardis (62), han encontrado que una estimulación eléctrica de áreas hipotalámicas, incluido el núcleo ventromedial (que se sospecha que es el centro simpático del hipotálamo) produce una supresión en la liberación de insulina.

En cuanto al Sistema Nervioso Parasimpático, la estimulación del vago a distintos niveles, aumenta la secreción de insulina en varias especies (88), existiendo también influencias parasimpáticas, vía Sistema Nervioso Central, que afectan a la secreción pancreática hormonal. Asimismo, la estimulación eléctrica del núcleo ventrolateral del hipotálamo (posible centro hipotalámico regulador del parasimpático), incrementa los niveles de insulina, mientras que su destrucción bilateral baja los niveles de insulina circulante.

El papel de los mecanismos nerviosos no está claro en la regulación fisiológica de la secreción de insulina. El Sistema Nervioso Autónomo puede ser importante en las respuestas del islote al stress, a través del Sistema nervioso Simpático (disminución en la liberación de insulina y aumento en la del glucagón) y Sisteme Nervioso Parasimpático (aumento en la liberación de insulina y disminución en la de glucagón).

El Sistema Nervioso Parasimpático puede coordinar las respuestas de insulina y glucagón a la comida, bien directamente, o a través de ciertas hormonas gastrointestinales.

2.2.3.f. Influencias hormonales.

La secreción de insulina por el islote puede verse afectada por diferentes hormonas. Unas lo hacen directamente, otras son activas únicamente cuando se administran "in vivo" y, por consiguiente, se presume que su acción es indirecta. Algunas de las hormonas poseen pequeña actividad intrínseca (por ejemplo, la gastrina), pero modifican la respuesta a otros estímulos. en la ma-

yoría de los estudios se han utilizado concentraciones suprafisiológicas de estas hormonas, y algunas de sus acciones representan efectos fisiológicos que permanecen todavía sin aclarar.

Las hormonas hipofisarias SH, ACTH, y TSH, afectan la función de la célula del islote, pero su mayor influencia fisiológica es, probablemente, indirecta (162).

Las hormonas tiroideas no tienen efecto directo "in vitro", sobre la célula del islote pancreático (62).

Los glucocorticoides tampoco tienen efecto directo "in vitro", pero se supone la hipótesis de que pueden jugar un cierto papel en el mantenimiento de la sensibilidad de la célula B a los estímulos insulinogénicos (90).

Estrógenos y progesterona probablemente no tienen efecto directo "in vitro", pero su administración "in vivo" durante mucho tiempo, puede originar un aumento en la secreción de insulina. (67) y (108).

Además, Bailey y Matty (5) han encontrado cambios en la

secreción de insulina y glucagón durante el ciclo estral en la rata.

La serotonina y la dopamina parece ser que también actúan sobre los islotes (62) (134), quizá por un mecanismo secundario a la liberación de adrenalina o noradrenalina (85). En la rata, el perro y el hombre, aumentan la respuesta de insulina a la glucosa (62).

Las prostaglandinas, la gonadotropina coriónica y varias hormonas vasoactivas, tales como angiotensina, histamina, bradicinina y kalikreina, también tienen efectos sobre la liberación de insulina (62).

La calcitonina es capaz de inhibir la segunda fase de la secreción de insulina mediada por la glucosa, posiblemente debido a la acción de esta hormona sobre el plasma (65).

La acción fisiológica que las hormonas gastrointestinales parecen tener sobre la función del páncreas endocrino es tan importante, y está tan directamente relacionada con nuestro trabajo, que su estudio nos merece

una especial atención, y serán estudiadas en un capítulo aparte.

2.2.4. Destino de la insulina secretada:
Transporte y distribución.

Se ha pretendido, a veces, que la insulina está unida a las proteínas plasmáticas, pero múltiples y recientes investigaciones indican que la insulina se transporta en la circulación en forma de moléculas libres.

Una proteína circulante con actividad antiinsulínica, llamada sialbúmina, ha recibido considerable atención, pero la significación, y aún la existencia de este factor no están aclarados. Parece ser, que para que exista este antagonismo es precisa la presencia de la cadena B (7.)

La vida media de la insulina en la circulación es corta, lo que se traduce por un índice de recambio fisiológico extremadamente rápido de la hormona, lo cual implica la necesidad de un aporte continuo de insulina endógena al individuo.

Por otro lado, la insulina es fijada por muchos tejidos y, tradicionalmente, se ha aceptado que las excepciones son la mayor parte de las células del encéfalo y los eritrocitos, pero, recientemente, Gambhir, Archer y Bradley (55) han encontrado receptores específicos para la insulina en eritrocitos humanos.

Los receptores para la insulina son glucoproteínas y se localizan, sobre todo, a nivel de las membranas plasmáticas de las células, habiéndose observado que la unión global en la mayoría de los sistemas procede de dos tipos de combinación: uno, saturable (receptor de unión) y otro, que es proporcional a la concentración de la hormona (unión no específica) (64).

La unión entre el receptor y la insulina es obligatoria para la activación de la célula y se realiza sin que la hormona entre en la célula sobre la que actúa (56).

2.2.5. Metabolismo de la insulina.

La fijación de la insulina va ligada a su de-

gradación a nivel de dos células efectoras importantes: el hepatocito y el adipocito. Terris y Steiner demostraron que la degradación de una cantidad dada de insulina marcada, ligada a los hepatocitos, era más rápidamente llevada a cabo que la degradación de esta misma cantidad añadida al medio. Además, comprobaron, que la degradación de la insulina era proporcional a la cantidad de hormona ligada en forma estable. A 30° C, un 40 % de la insulina ligada en forma estable, resulta inmediatamente degradado. Esto constituyó una sorpresa, ya que se tenía la idea de que la degradación de la insulina y su unión a los receptores eran procesos independientes a nivel de las membranas plasmáticas del hígado (64).

Se han descrito tres sistemas inactivadores de la insulina. Dos de ellos rompen las uniones disulfuro en la molécula (uno enzimáticamente y el otro no enzimáticamente) y otro sistema, enzimático, se encarga de hidrolizar las propias cadenas A y B (86). Los dos sistemas enzimáticos se denominan, en conjunto, insulinasas.

El sistema enzimático que induce la ruptura de

ta de los enlaces disulfuro que mantienen juntas a las cadenas A y B, depende del enzima glutathion-insulina-trans hidrogenasa hepática. Este enzima divide a la molécula de insulina en las dos cadenas A y B, y, como coenzima, tiene al glutathion.

Varandani (163) ha estudiado también la existencia de la secuencia de degradación de la insulina en el riñón, corazón y músculo esquelético de rata.

2.3.- Glucagón.

El glucagón pancreático está producido por las células A de los islotes de Langerhans, concretamente, en unos gránulos de dichas células, llamados alfa.

Químicamente es un péptido de 29 aminoácidos, cuya secuencia aminada lo sitúa firmemente en la familia de la secretina de las hormonas gastrointestinales, diferenciando en esto totalmente de la insulina, y sugiriendo la idea de que, aunque ahora su papel es predominantemente metabólico, probablemente ha evolucionado desde una hormona intestinal precursora (131). Su estructura primaria es idéntica en los mamíferos, salvo en el conejo de Indias. (Figura 3).

En el perro, se produce también glucagón del tipo pancreático en el fundus gástrico, pero en el hombre, aunque en fetos humanos se ha encontrado, la situación es diferente y menos de la mitad del porcentaje del glucagón de tipo pancreático procede de la mucosa del tubo digestivo.

Las células A de los islotes y las del fundus

Figura 3: Molécula de glucagón

¹His Ser Gln Gly Thr Fen Ser Asp Tyr Ser Lys Trp Leu Asp Ser Arg Arg Ala Gln Asp Fen
Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
29

gástrico contienen, además de glucagón, un polipéptido llamado GLI (101)(150), que también se ha identificado en las células llamadas A-like, que predominan en el intestino delgado postduodenal (160).

Se ha encontrado, asimismo, un glucagón de menor tamaño, del que se sugiere que puede ser un "proglucagón" o precursor del glucagón (160). Este no se une a los receptores del glucagón ni tiene ninguna de las acciones de la hormona, convirtiéndose en el glucagón activo. La existencia de este precursor ha sido también probada por Noe et al.(112).

2.3.1. Secreción del glucagón.

El glucagón se segrega por un mecanismo de emcitosis, al igual que la insulina, en el cual se precisa la presencia de iones Ca^{+2} , que ejercen sobre la célula A una doble acción, estimuladora e inhibidora a la vez, a través de un proceso que permanece todavía desconocido (93)(94).

La secreción de glucagón está regulada, esen-

cialmente por la concentración de glucosa en sangre. Es aumentada por la hipoglucemia y disminuida por la hiperglucemia, y la estimulación del citado carbohidrato origina una respuesta por parte del glucagón que, al igual que ocurría en la insulina, presenta una cinética de tipo sigmoideal (60).

No obstante, la glucosa inhibe a la célula A con un mayor grado de efectividad que el que tiene sobre la célula B. Sin embargo, el mecanismo por el cual actúa la glucosa permanece todavía desconocido, si bien parece estar relacionado con la presencia de diferentes iones o el metabolismo en la célula A de nucleótidos cíclicos .

Grodsky et al. (60) han comprobado, que de los dos anómeros de la glucosa, el alfa es más efectivo que el beta para actuar como inhibidor del glucagón.

2.3.1.a. Efecto de los aminoácidos sobre la secreción de glucagón.

Los aminoácidos estimulan la secreción de glucagón en distintos grados, a excepción de aquellos que

tienen una cadena ramificada (161).

Los más potentes estimuladores so la alanina y la argimina, siendo usado esta último como test de la función de la célula A.

2.3.1.b. Acidos grasos libres.

Las concentraciones altas de ácidos grasos libres inhiben la secreción de glucagón. El efecto inhibitor de estos ácidos sobre el glucagón puede formar parte de un sistema de retroalimentación negativa, ya que la hormona pancreática es un agente lipolítico y cetogénico (62).

2.3.1.c. Hormonas.

Son varias las hormonas que actúan sobre las células A de los islotes de Langerhans.

El cortisol aumenta la respuesta del glucagón a los estímulos. Las catecolaminas estimulan la secreción de glucagón en el perro, vía receptores adrenérgicos.

De las hormonas gastrointestinales, ya veremos, cuando a continuación tratemos de ellas, las acciones que ejercen sobre las células A pancreáticas y su producción de glucagón.

2.3.1.d. Sistema nervioso: regulación nerviosa de la secreción.

También sobre la célula A tiene un importante papel modulador el Sistema Nervioso Autónomo, tanto a través de sus fibras adrenergicas, como colinérgicas.

En cuanto al Sistema Nervioso Simpático, se ha comprobado, que la adrenalina o epinefrina, tiene una acción estimuladora de la secreción de glucagón, la cual es incrementada por estimulación de los receptores beta, e inhibida por la estimulación de los receptores alfa-adrenergicos (15).

Asimismo, la estimulación de áreas hipotalámicas simpáticas aumenta la secreción de glucagón, lo que demuestra que el Sistema Nervioso Central ejerce una modulación de la secreción de esta hormona a través del Sis-

tema Nervioso Simpático (62).

A su vez, la estimulación del vago (perteneciente al Sistema Nervioso Parasimpático), en varios niveles, estimula la secreción de glucagón en varias especies, efecto también conseguido por la acetilcolina.

El Sistema Nervioso Parasimpático puede coordinar las respuestas del glucagón y la insulina a la ingestión de nutrientes, bien directamente, o bien a través de las hormonas gastrointestinales.

No existe ninguna evidencia que nos permita afirmar que el Sistema Nervioso Central ejerce, a través del parasimpático, alguna influencia sobre la secreción de glucagón, pero posiblemente la respuesta del glucagón a la hipoglucemia sea, en parte, a través de estas vías.

El papel de los mecanismos nerviosos en la regulación fisiológica de glucagón e insulina puede ser importante en la respuesta de los islotes al stress.

2.3.2. Acciones del glucagón.

El mayor papel del glucagón reside en la movi-

lización de la glucosa desde el hígado.

Estimula la gluconeogénesis hepática, usando los aminoácidos disponibles como substratos en este proceso.

El glucagón también tiene un efecto calorígeno, que no se debe directamente a la hiperglucemia que esta hormona origina. Más bien, tal hiperglucemia parece ser resultado de la desaminación hepática de varios aminoácidos durante el proceso de la gluconeogénesis dentro del hígado. Como se necesita tiroxina para la elevación del metabolismo que estimula el glucagón, resulta que la acción calorígena del glucagón es, de hecho, causada por la tiroxina, la cual estimula directamente la oxidación de los residuos desaminados de los aminoácidos.

En condiciones fisiológicas, puede considerarse al glucagón como la hormona del ayuno, puesto que aumenta la gluconeogénesis hepática, con lo cual, evita la hipoglucemia en el ayuno, debido a que eleva la concentración de glucosa sanguínea.

El glucagón también induce, ya sea directa o indirectamente, otros efectos fisiológicos y metabólicos diferentes.

1º.- La gluconeogénesis hepática originada por el glucagón, se acompaña de un aumento de la producción de urea con base en los residuos de aminoácidos liberados durante el proceso de desaminación de los mismos. Además, se inhibe directamente la incorporación de aminoácidos en las proteínas hepáticas.

2º.- El glucagón inhibe la magnitud de la síntesis de ácidos grasos y colesterol a partir de acetato en el hígado, y aumenta la tasa de producción de cuerpos cetónicos, activando al mismo tiempo la lipasa hepática, con lo que al final se consigue un aumento de los ácidos grasos libres, además de un incremento de la cetogénesis.

3º.- Actúa directamente sobre el tejido adiposo, estimulando la liberación de ácidos grasos libres y glicerol.

4º.- Acelera el flujo plasmático renal y la ta-

sa de filtración glomerular.

5º.- Estimula directamente la contractilidad cardíaca, con lo cual se produce un efecto inotrópico positivo.

2.3.3. Mecanismo de la acción hiperglu- cemiante.

Se cree que la interacción del glucagón con sus receptores inicia una cascada de reacciones en las cuales el aumento en la actividad de la adenilciclase, origina un aumento en la producción de AMPc. Este activa, a su vez, a la quimasa-fosforilasa y este enzima acelera la transformación de las reservas intrahepáticas de glucógeno en glucosa, con lo que este carbohidrato se libera al sistema porta.

El glucagón actúa únicamente en las reservas hepáticas de glucógeno, y no modifica el sistema fosforilasa en el músculo esquelético.

2.4. Hormonas gastrointestinales.

2.4.1. Eje enteroinsular.

Cuando los aminoácidos o la glucosa se administran por vía oral, provocan una liberación de insulina mayor que cuando se infunden por vía intravenosa (29) (62) (65)(107).

Este efecto se debe a la liberación en la mucosa intestinal de una o varias hormonas gastrointestinales, que actúan modificando la secreción de la célula B (168). La estimulación de la secreción de insulina por las hormonas gastrointestinales capacita al islote para coordinar la distribución proporcional de los nutrientes que llegan, con los que entran (160).

Las hormonas gastrointestinales pueden constituir las ramas aferentes de lo que Unger ha denominado "eje enteroinsular". Este término, propuesto en 1969, se usa para designar a un sistema regulador en el cual la secreción de las células del islote pancreático están bajo la parcial influencia de factores hormonales del

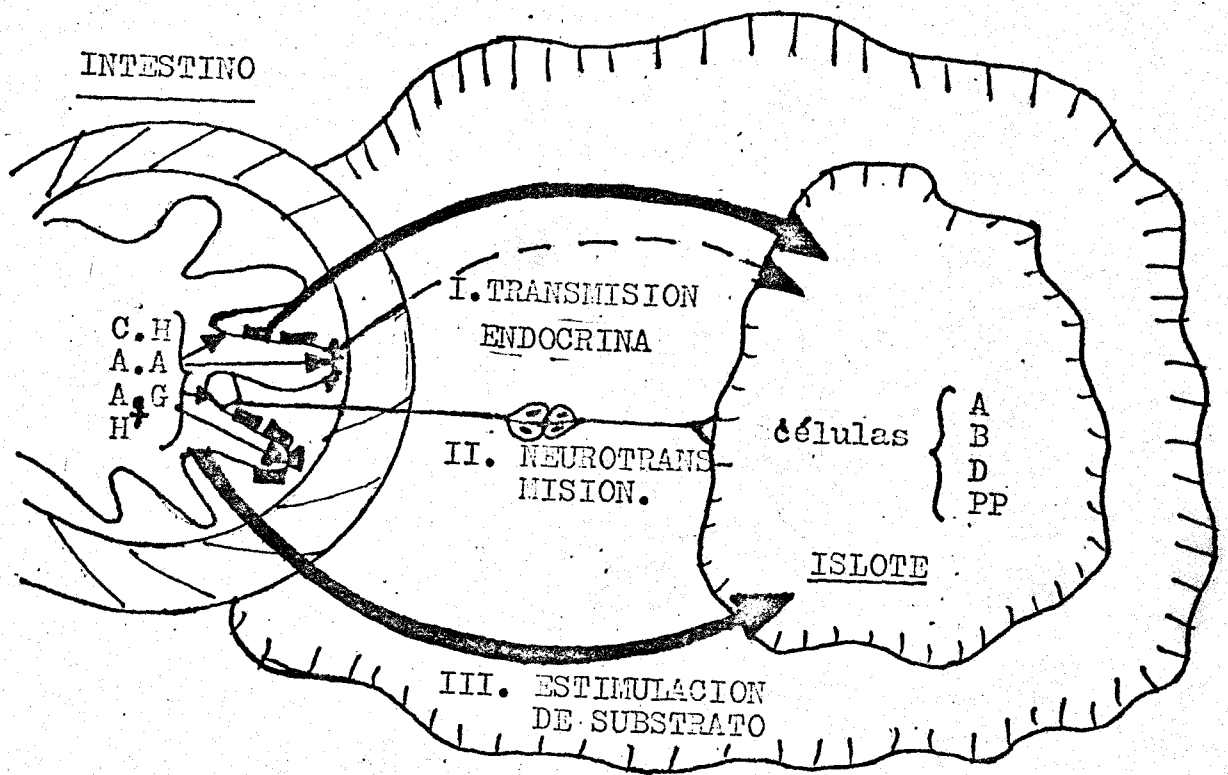


Figura 4

(Tomada de: Creutzfeldt(30)).

- C.H. : carbohidratos
- A.A. : aminoácidos
- A.G. : ácidos grasos
- H⁺ : protones

tracto gastrointestinal. (Figura 4).

Es de resaltar, que ni el estómago, ni el duodeno, son parte importante del eje (109) y, que sin embargo, el yeyuno participa de modo muy activo en él (42).

Vimik et al. (164) comprobaron, además, que el nervio vago ejerce una acción inhibitoria sobre el citado eje enteroinsular.

2.4.2. Definición de incretina.

Hace ya alrededor de cincuenta años, que La Barre y colaboradores llegaron a la conclusión de que la secretina contenía dos principios activos: uno, llamado incretina, que estimulaba la secreción interna del páncreas y otro, llamado excretina, que estimulaba la secreción externa pancreática.

Estos conceptos, que fueron dados de lado, han vuelto a surgir posteriormente, con la teoría del eje enteroinsular. Actualmente, se piensa que es una parte de ese complejo eje, considerándose la incretina como un

transmisor endocrino, que actúa en la liberación de insulina, que es secretada por el tracto gastrointestinal, y que cumple las dos condiciones siguientes:

1ª.- Se libera por la acción de los nutrientes, especialmente de los carbohidratos.

2ª.- Estimula la secreción de insulina en presencia de glucosa, aunque ésta sea administrada en infusión exógena, en cantidades que no excedan los niveles sanguíneos alcanzados después de una ingestión de comida.

La dependencia del efecto de la incretina sobre los niveles de glucosa (al menos en las concentraciones fisiológicas de la hormona) es un importante requisito previo de este fundamento para la prevención de la hipoglucemia. De este modo, una incretina puede liberarse por la acción de distintos contenidos intestinales, pero los niveles elevados de incretina en sangre estimulan la secreción de insulina únicamente en presencia de niveles elevados de glucosa sanguínea, es decir, cuando se necesita la insulina (30).

2.4.3. Localización de las hormonas gastrointestinales.

En la superficie mucosa del tubo digestivo, desde el estómago al colon, existe una gran cantidad de células endocrinas que producen péptidos y los secretan a la circulación sanguínea. La primera vez que se describió fue en 1935, cuando Feyrter dió el nombre de "órgano epitelial endocrino difuso" a las células endocrinas del tracto gastrointestinal, páncreas y vías biliares, señalando, además, que las células por él descritas eran de naturaleza paracrina, es decir, que actuaban localmente sobre las células inmediatamente vecinas. Su teoría, profundamente ignorada en aquella época, ha sido resucitada en vista de los recientes descubrimientos (131).

Para algunos autores, este "órgano" tiene un origen embriológico endodérmico, pues procede de las células enterocíticas y células ductales (119).

Para otros, sin embargo, proceden de las crestas neurales (66) (119), siendo su procedencia neuroectodermal, por lo que estas células endocrinas digestivas de

berían considerarse células "neuroendocrinas".

Su distribución, como ya hemos dicho, es extensa y a diferencia de otras glándulas endocrinas, que poseen una inervación independiente y una sola vía de aporte sanguíneo, este sistema está constituido por una unidad neuroendocrina compleja, sometida a una diversidad de estímulos, principalmente luminales, y lista para responder de forma sincronizada al paso de alimento a lo largo del intestino (131).

2.4.4. Concepto APUD.

El concepto APUD fue introducido en 1968 por Pearse para agrupar a un pequeño número de células, cuya función principal era la de producir hormonas de naturaleza peptídica y que tienen ciertas características citoquímicas y ultraestructurales comunes (66).

Según Pearse, estas células capaces de segregar péptidos, cumplen las siguientes características:

- 1ª.- Alto contenido en aminos o sus precursores.
- 2ª.- Capacidad para la captación de los mismos.

3ª.- Gran actividad de enzimas de descarboxilación.

4ª.- Elevado contenido de esterasa no específica o colinesterasa o ambas (9)(118)(131)(133).¹

El término APUD deriva de las letras iniciales de las características transformadoras de las aminas que poseen las células de este grupo (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation, es decir, Precusores de la Captación y Descarboxilación de Aminas). Debido a la creciente evidencia de péptidos que son comunes tanto al cerebro, como al intestino, se ha ampliado el concepto del origen de las citadas células y, actualmente, se considera que todas derivan del neuroectodermo (118).¹ Así pues, las células secretoras de péptidos del sistema digestivo (desde el VIP a la insulina) son parte del sistema nervioso y tienen el mismo origen embrionario que las neuronas.

Desde que se aisló y purificó la sustancia P en el cerebro y en el intestino, se ha sugerido la existencia de péptidos comunes a ambos sistemas (133).¹ Algunos de los péptidos presentes en el intestino están en las terminales nerviosas (¿neurotransmisores?), otros

en las células APUD, algunos, en ambos sitios.

Al tratar de estos péptidos es mejor nombrarlos como mensajeros químicos, mas que como hormonas o neurotransmisores, ya que todos ellos son coordinadores de la función intestinal y de la función cerebral, en un complejo sistema de mecanismos de retroalimentación positiva y negativa (118).

El modo de acción de los péptidos gastrointestinales es así, triple. En primer lugar, pueden almacenarse en las células nerviosas y ser liberados de una sinapsis independiente por despolarización axónica. Tendría una acción moduladora de la actividad de las terminales nerviosas. En otras palabras, se estaría comportando como un neurotransmisor.

En segundo lugar, pueden encontrarse en células de tipo endocrino que responden a los estímulos específicos del ambiente inmediato y sólo liberan localmente sus productos hormonales, no pasando éstos necesariamente a la circulación general (133).

Responderían, entonces, al concepto de acción paracrina

o "ciberninas", denominándose así a los mensajeros químicos que, una vez producidos, no actúan ni tan lejos como las hormonas, ni tan cerca como los neurotransmisores (118).

Por último, pueden ser liberados por células de tipo endocrino a la corriente sanguínea, para que ésta los transporte a su lugar de acción, en tejidos alejados, permitiendo, así, que se detecten en sangre. Únicamente este último mecanismo de acción cumple con la definición clásica de hormona.

2.4.5. Clasificación de las células.

La primera clasificación que se hizo de estas células secretoras fue en un simposio celebrado en 1969 en Wiesbaden. Hasta entonces no había habido una unificación en el tema. Posteriormente, esta clasificación se revisó y completó en 1973 y los criterios que se utilizaron para seguirla fueron, predominantemente, morfológico-ultraestructurales, pero debido a los avances en las técnicas inmunocitoquímicas y de microscopía electrónica, se ha tenido que hacer otra revisión, sobre una base más fun

cional, ratificada en Lausanne, en 1977 (131).

2.4.6. Clasificación de los péptidos.

Si bien existe una casi general aceptación de los criterios de clasificación de las células endocrinas del tracto gastrointestinal, no ocurre lo mismo en cuanto a la clasificación de los péptidos que en ellas se producen.

La nomenclatura de éstos ha pasado por estados de confusión en los que una misma hormona ha sido nombrada de distintas formas, en razón de los diferentes efectos fisiológicos. Actualmente, para las hormonas mejor conocidas se aceptan con unanimidad los nombres de: gastrina, PZ-CCK, secretina, glucagón, con sus variedades de glucagón pancreático y enteroglucagón, VIP y GIP (119).

Hay autores que dividen a estas hormonas en dos grandes grupos, en función de sus características químicas.

El primer grupo lo forman la gastrina y la PZ-CCK.

El segundo, lo forman la secretina, el glucagón, el VIP, el GIP, la quimodena y la motilina (118).

De estos grupos, el primero estimula la secreción gástrica, la secreción de enzimas pancreáticos, la motilidad y el crecimiento del páncreas y el crecimiento de la mucosa intestinal.

El segundo, en general, inhibe, por el contrario, la secreción gástrica y estimula el flujo biliar y el pancreático, la secreción intestinal e influye sobre la secreción de insulina.

Para las sustancias de carácter hormonal aún incierto, Grossman ideó una clasificación que es aceptada por bastantes autores (119).

2.4.7. Mecanismo de secreción de las hormonas gastrointestinales.

El mecanismo de secreción de estas hormonas está poco estudiado y actualmente existen pocos trabajos que traten de aclararlo. Sin embargo, se sabe con segu -

ridad que el AMPc actúa como segundo mensajero en el mismo.

En concreto, se ha encontrado en la mucosa gástrica una adenilciclase sensible a la gastrina. (66).

Las células B de los islotes de Langerhans, también pertenecientes al sistema APUD, tienen un mecanismo de secreción dependiente del AMPc, pero todavía no se conoce el disparador que pone en marcha el sistema intercelular de la secreción.

Es de gran importancia el sistema amplificador de la respuesta, que se inicia con la adenilciclase. Una sola molécula de adenilciclase activada puede transformar más de 100 moléculas de sustrato de ATP en 100 moléculas del producto de la reacción, AMPc, en pocos segundos. Así, la acción del estímulo inicia una reacción en cadena por medio de la cual una molécula de dicho estímulo puede producir 10^8 moléculas del producto en sólo cuatro etapas.

En el caso de las células B del páncreas endocrino, Goberna y colaboradores han comprobado que la glu-

cosa es capaz de aumentar rápidamente los niveles intracelulares del AMPc y cuando existe un bloqueo de la secreción de estas células B, como ocurre, por ejemplo, en el ayuno, la glucosa es incapaz de aumentar los niveles intracelulares del citado nucleótido.

Sobre el mecanismo de secreción de las demás hormonas gastrointestinales, no se conoce ningún detalle, aunque se cree que será análogo a los descritos, es decir, a través del sistema adenilciclasa, con el AMPc de mensajero (37) e incluso con éste y el GMPc (17).

2.4.8. Relación de las hormonas gastrointestinales y sus efectos sobre el páncreas endocrino.

A) Hormonas circulantes.

A.1. Gastrina.

En 1964 se aislaron dos heptadecapéptidos de la mucosa antral del cerdo, que se denominaron gastrina I y II. En 1970, se aisló una molécula mayor, que se vio que era la principal forma circulante de gastrina y se la llamó

gastrina grande. Está constituida por 34 residuos de aminoácidos, siendo el heptadecapéptido original con 17 aminoácidos adicionales en N terminal.

La gastrina es secretada por las células G, que se encuentran en las glándulas pilóricas del antro, en la porción media de la mucosa, y en el duodeno proximal y su acción principal es la estimulación de la secreción ácida del estómago (66)(131)(133).

Pero actúa también sobre el páncreas exocrino, incrementando débilmente la secreción de bicarbonato, el volumen de jugo pancreático, la cantidad de enzimas y el flujo de sangre a la glándula, ejerciendo también una acción trófica sobre la porción exocrina del páncreas.

A dosis farmacológicas, se ha comprobado que estimula la secreción de insulina (47) (130) y se ha demostrado que la administración oral de cierta cantidad de glucosa, aumenta la concentración de gastrina en suero (11) (138).

Según Ipp et al., (84), la gastrina, junto con

el GIP, la secretina y el octapéptido de la CCK, estimulan la secreción de somatostatina y ésta, a su vez, influye en la de insulina y glucagón.

Unger y Eisentraut (158), propugnan que la gastrina forma parte del eje enteroinsular, opinión también mantenida por Friesen (50) (51) y Creutzfeldt (30), si bien, el incremento de gastrina producido en respuesta a la glucosa, es menor en relación con el aumento que se produce en los niveles del GIP en respuesta al mismo estímulo.

A.2. Secretina.

Fue la primera hormona que se describió. Está constituida por 27 residuos de aminoácidos y corresponde a la familia del glucagón/VIP/GIP de péptidos. Las secuencias de aminoácidos de estos péptidos son muy similares y es sumamente probable que todos ellos procedan de la misma hormona ancestral.

Está presente, principalmente, en la mucosa duodenal, pero se ha encontrado también, en cantidades

significativas, en el yeyuno, especialmente en su región superior.

Su acción biológica principal es la de controlar la secreción pancreática de bicarbonato, pero también potencia la acción de la CCK sobre la secreción pancreática de enzimas (26) (133).

Sobre el páncreas endocrino actúa favoreciendo, por una parte, la liberación de insulina en presencia o ausencia de glucosa (99) y, por otra parte, inhibe la liberación de glucagón, por lo que la secretina, dentro del eje enteroinsular, puede ser más bien un agente antihiperglucemiante que hipoglucemiante.

Estos efectos son suprimidos por acción de la somatostatina (137).

Son numerosos los autores que sostienen la significancia de la hormona dentro del eje enteroinsular (13) (158) (161), y Danielsson y Lernmark (33) mantienen que para actuar, necesita de la existencia del parénquima exocrino. Sin embargo, Shima et al. (144), indican

que, en condiciones basales, dosis fisiológicas de la hormona no son capaces de influir sobre la insulina y el glucagón.

Recientemente, Petersen, Solomon y Grossman (127) han comprobado que el tratamiento crónico con secretina no produce ninguna modificación histológica en el páncreas.

A.3. CCK-PZ.

En 1928, Ivy y Goldberg vieron que cuando las grasas penetraban en el intestino delgado, estimulaban la liberación de una sustancia que provocaba contracciones de la vesícula biliar. A esta sustancia la denominaron colecistoquinina. Más tarde, en 1943, se descubrió una sustancia de tipo hormonal en la mucosa del duodeno que estimulaba la secreción enzimática del páncreas, a la que llamaron pancreozimina. Al paso del tiempo resultó evidente que, en realidad, ambas eran una misma hormona y actualmente, el nombre aceptado para ella es el de colecistoquinina (CCK).

Químicamente es un péptido de 33 aminoácidos.

Los residuos del C terminal son idénticos a los de la gastrina y toda la actividad de su molécula se encuentra en los ocho aminoácidos unidos a dicho C terminal.

Existe otra variante de la hormona, cuya molécula tiene 39 aminoácidos.

La CCK se encuentra en el duodeno, yeyuno, y una pequeña cantidad en el íleon, y se libera por la acción de los aminoácidos, ácidos grasos y ácido clorhídrico.

Sobre el páncreas, tiene un efecto trófico y estimula la secreción de insulina y glucagón a dosis farmacológicas (53) (114) (119) (133).

Para Unger y Eisentraut (158), la pancreozimina es de entre todas las hormonas gastrointestinales anteriormente mencionadas, la que estimula de un modo más potente la secreción de insulina, además de estimular también al glucagón pancreático, por lo que puede ser un miembro del eje enteroinsular.

A.4. GIP.

Es un péptido formado por 43 aminoácidos, de estructura similar a la del VIP, secretina y glucagón. Hay también evidencias de la existencia de una forma de mayor peso molecular, que aún no se ha aislado.

Se localiza en el yeyuno, con pequeñas cantidades en el duodeno y en el íleon superior.

La primera acción fisiológica descubierta en el GIP, fue la de inhibir la secreción ácida gástrica, pero, sin embargo, su acción principal es la que ejerce sobre el páncreas endocrino, estimulando la secreción de insulina (20)(38)(54)(74)(120)(121)(135), así como la de glucagón (40)(135).

El GIP se libera debido a la ingestión de glucosa, grasas o aminoácidos (38) y Cataland y col. comprobaron en 1974 que, tras la administración oral de glucosa, se producía un aumento significativo de los niveles de GIP en suero al mismo tiempo, e incluso antes, del incremento en los niveles de insulina (29)

Asimismo, Ebert et al. (40), han demostrado que concentraciones altas de ácido clorhídrico (es decir, una disminución del pH duodenal) estimulan la liberación de GIP en ratas y humanos.

Este péptido se considera como el mayor media dor de la liberación de insulina (3) y el principal candidato a formar parte del eje entero-insular (122)(158).

Las dosis fisiológicas de GIP aumentan el efecto que sobre la secreción de insulina tiene la glucosa, pero no aumenta la liberación de insulina bajo con diciones normales de glucemia (40), puesto que el efecto insulinogénico de la hormona depende totalmente de la concentración de glucosa (24)(30).

Así pues, de acuerdo con los descubrimientos realizados en estos últimos años, el GIP está cobrando cada día más interés como "polipéptido insulinotrófico dependiente de glucosa", que como "polipéptido inhibidor gástrico" (40).

Para Creutzfeldt (29)(30), es el más firme

elemento de los que pueden ser denominados "incretinas", junto a la gastrina, la secretina y el VIP, hipótesis también mantenida por Ebert (40)

Taminato et al.(154) ha obtenido, incluso, un GIP sintético que también tiene efecto insulinogénico.

Dupré (39) ha comprobado la existencia de unas posibles interacciones entre el GIP y el glucagón en adipocitos de rata, actuando el primero como inhibidor de la acción lipolítica del segundo, al competir con él en el momento de unirse a los receptores situados en las células, e inhibiendo a concentraciones fisiológicas la estimulación que el glucagón produce sobre el AMPc. Por ello, este autor considera que el GIP puede ser un modulador fisiológico de los efectos del glucagón.

Para Creutzfeldt (30), puede existir otra función del GIP, y es la de estimular la liberación de glucagón, pero, sin embargo, ésta ha sido puesta en duda, ya que la administración de dosis fisiológicas y supra-fisiológicas de GIP exógeno no han estimulado la liberación de glucagón en el hombre.

Estudios realizados en casos de absorción de-

fectuosa en el intestino, han llevado a la conclusión de que es la absorción de nutrientes y no su mera presencia en el intestino, lo que hace que el GIP se libere. Esto resulta un mecanismo protector en casos de hipoglucemia, ya que es únicamente cuando se necesita insulina cuando se segrega el GIP, y no en otro momento. (30). La forma en que esta absorción de principios inmediatos estimula a las células productoras de GIP, aún no se conoce.

Para controlar la liberación de GIP existe en tre él y la insulina un mecanismo de retroalimentación, de modo que hay un sistema fisiológico capaz de proteger al organismo de una hiperinsulinemia después de una ingestión de comida. Sin embargo, este mecanismo de control sólo actúa en el caso de que el nutriente estimulador sea una grasa, pero no tiene ningún efecto en el caso de la glucosa, lo cual se puede explicar considerando que el organismo necesita protección contra una liberación de insulina que fuera estimulada por un agente cualquiera en casos de euglucemia (niveles normales de glucosa), pe ro no en casos de hiperglucemia.

Asimismo, existe un control de la liberación

del GIP por parte del Sistema Nervioso Autónomo, puesto que se ha demostrado que se produce una respuesta exagerada de sus células secretoras tras la administración de bloqueantes beta-adrenérgicos y una supresión de la respuesta de dichas células tras la administración de est~~imuladores~~ muladores de los receptores beta. No obstante, el papel regulador del sistema nervioso no está aún estudiado en profundidad.

A.5. Polipéptido pancreático.

Está formado por 36 aminoácidos y se encuentra, principalmente en las células PP del páncreas endocrino, aunque una pequeña parte se produce también en el tracto gastrointestinal, especialmente en el intestino delgado.

En el hombre se ha observado que existe un aumento de los niveles plasmáticos de esta sustancia tras la ingestión de alimentos, el cual va paralelo con el aumento en los niveles de insulina circulante tras la ingesta (22).

En vista de los efectos que los cambios en

la concentración de glucosa sanguínea ejercen sobre el polipéptido pancreático humano (HPP), se piensa que puede estar directamente implicado en la homeostasis de la glucosa (105).

Según Abe (1), el polipéptido pancreático forma parte de un mecanismo de retroalimentación en la regulación de la secreción insulínica, y para Campillo (22), puede estar formando parte del grupo de señales humorales que conectan funcionalmente tubo digestivo y páncreas endocrino.

A.6. Enteroglucagón.

Se descubrió en 1961 en intestino y páncreas y se considera que su estructura es diferente a la del glucagón pancreático.

La mayor concentración de enteroglucagón se encuentra en el íleon, habiendo también cantidades significativas en el colon.

El enteroglucagón del plasma se eleva rápida*

mente después de una comida y parece ser que se libera, tanto por la acción de los triglicéridos de cadena larga, como por los hidratos de Carbono. Estos estímulos suprimen la liberación de glucagón pancreático.

Si la hipótesis antes esbozada es correcta, entonces tanto las células enteroglucagónicas, como el nivel circulante, deben aumentar en los estados de hiperfagia o tras las resecciones parciales de intestino, cuando hay un estímulo trófico de la mucosa. Esta hipótesis sólo ha sido comprobada en caso de ratas hiperfágicas, en las que se ha encontrado una cantidad considerablemente aumentada de glucagón en la mucosa intestinal.

B) Péptidos comunes al cerebro y al intestino.

B.1. VIP.

Químicamente está formado por 28 aminoácidos. Se ha encontrado tanto en el sistema nervioso como en las células endocrinas del tracto gastrointestinal (21).

En el Sistema Nervioso Autónomo, la cantidad

de VIP presente es, con mucho, la mayor de todos los neuropéptidos investigados hasta el momento y lo mismo ocurre en el intestino, donde por radioinmunoanálisis se ha demostrado que existe en mayor cantidad que la de cualquier otra hormona, sobre todo en el yeyuno e íleon (13).

Aparte de otros efectos sobre distintos órganos, sobre el páncreas endocrino actúa estimulando la liberación de insulina (87) y de glucagón (98)(133). Parece ser que, para la estimulación de la secreción insulínica precisa concentraciones fisiológicas constantes de glucosa (165).

Su acción es inhibida por la somatostatina (23) y, dada la rapidez con que es eliminado de la circulación, se considera que su papel, probablemente, se debe a una doble actuación, como hormona tisular local, o bien como neurotransmisor.

B.2. Neurotensina.

Es un péptido de 13 aminoácidos que se encuentra en el íleon, principalmente, en cantidades menores en el ye-

yuno y mínimas en el estómago, duodeno y colon, aunque también se puede hallar en el hipotálamo.

Parece que está implicado en la regulación de la glucosa sanguínea, pues aumenta la glucogenolisis, produciendo hiperglucemia, estimula la liberación de glucagón e inhibe la de insulina.

B.3. Sustancia P.

Su secuencia consta de 11 aminoácidos. Está presente en varias zonas del Sistema Nervioso Central, en los nervios periféricos (especialmente en el plexo neural intramural del intestino) y en unas células de tipo enterocromafín del intestino.

La acción principal sobre el páncreas endocrino es la de inhibir la liberación de insulina por las células B de los islotes de Langerhans.

B.4. Somatostatina.

Es un tetradecapéptido cíclico segregado en las cé-

lulas D del estómago, duodeno, yeyuno y páncreas, que también está presente en el hipotálamo y en los nervios de la pared de los intestinos delgado y grueso.

Es la única de las hormonas que se producen en el hipotálamo, que se ha comprobado que afecta directamente a la secreción in vitro de insulina (11)(153)(166). Esta sustancia inhibe los efectos de todos los estímulos de la insulina.(131). Su modo de acción sigue dando lugar a especulaciones (63).

Por radioinmunoensayo e inmunofluorescencia se ha comprobado la existencia de somatostatina con actividad dentro de los islotes, lo que sugiere que este agente actúa como factor regulador local de las células A y B (60)(70)(152), aunque hay autores que opinan que también puede actuar por medio de una reducción de la liberación de hormonas gastrointestinales (141)(23).

3.- MATERIAL Y METODO

3.1. Animales.

Se han utilizado tres lotes de ratas Wistar hembras, adultas, de pesos comprendidos entre 180 y 265 g

El primer lote está formado por ratas intactas, el segundo, por ratas con resección del 50 % y, el tercero, por ratas con resección del 80 %.

3.2. Dietas.

Los animales se han alimentado con pienso para ratas de laboratorio Sanders^R, con los siguientes principios inmediatos:

Proteína bruta : 18% mínimo
Grasa bruta : 3% "
Unidades alimenticias : 102%
Proteína digestible por U.A.: 160 g
Fibra bruta : 5%
Sustancias minerales : 5%

3.3. Preparaciones quirúrgicas.

Los animales se mantienen en ayunas durante las 24 horas anteriores al desarrollo de la operación, permitiéndoles, sin embargo, ingerir agua "ad libitum".

Para la anestesia se utiliza Pentobarbital Sódico (Nembutal^R), en inyección intraperitoneal, a dosis de 4,5 mg /100 g de peso corporal.

A continuación se les inyecta intramuscularmente, una solución de Sulfato de Atropina al 0,5 %, en dosis de 0,2 ml, para aminorar el exceso de secreciones respiratorias que a veces acompañan a la intervención.

Tras rasurar completamente el abdomen del animal, se aplica sobre la piel tintura de yodo, como antiséptico.

3.3.1. Resección intestinal.

Se efectúa una incisión con el bisturí a lo largo de la línea alba, que recorra el abdomen, realizando la laparotomía media, mediante la que se seccionan los distintos planos musculares, hasta penetrar en la cavidad abdominal.

Con hilo de lino se mide la longitud total del intestino delgado, contado desde la válvula pilórica hasta

la válvula ileocecal y se determina la longitud de la parte distal que corresponda reseca. Una vez que ésta ha sido convenientemente señalada, se procede a ligar cada uno de los vasos que irrigan dicha zona, dejando intactos aquellos que se encargan de la vascularización del intestino restante. Cuando todos los vasos están ligados, se secciona el intestino, en primer lugar por la parte más próxima al duodeno y después por la más cercana al ciego, cuidando de que la zona donde cortemos esté libre de contenido intestinal. A continuación, se realiza la anastomosis término-terminal.

La sutura del intestino se lleva a cabo con aguja atraumática y seda de 4/0, USP.

El plano muscular se sutura con Catgut nº 0, mediante puntos entrecortados y aguja curva y la piel, con aguja recta y lino de calibre mediano, a puntos sueltos.

Durante toda la intervención, que tiene una duración de 55 a 60 minutos, se vigila el ritmo y las secreciones respiratorias, sondando al animal si fuera

preciso.

La herida, una vez cerrada, se trata con tintura de yodo.

3.4. Postoperatorio y mantenimiento de los animales.

Durante las 24 horas que siguen a la operación, los animales no reciben ni agua, ni comida.

A las 24 horas se les suministra agua y a las 48 horas, pienso molido, si no presentan procesos diarreicos. En días sucesivos, se les va sustituyendo éste por pienso normal.

Se observan las heces y en caso de diarrea se les administra Tanagel^R disuelto en el agua de bebida.

Se considera terminado el proceso de recuperación cuando se comprueba que la ingesta y las heces son normales.



En esta fotografía puede observarse una rata que ha sido operada de una resección del 50 %, a los seis meses de la intervención.

3.5. Desarrollo de los experimentos.

Los animales son mantenidos en células aisladas, a temperatura constante durante todo el período de adaptación, administrándoseles agua y comida "ad libitum".

A los seis meses de efectuada la intervención quirúrgica, se procede a realizar las correspondientes determinaciones analíticas.

3.5.1. Determinación de la fase del ciclo estral.

Teniendo en cuenta que, según resultados obtenidos por diversos autores (5)(62), los niveles de glucosa sanguínea varían en la rata a lo largo de su ciclo estral, como consecuencia de la acción que las hormonas sexuales tienen sobre el metabolismo de carbohidratos y la secreción de insulina, y que estos valores de glucemia son menores durante la fase de estro, como han demostrado Bailey y Matty, hemos creído conveniente la determinación de dicha fase en todos los animales objeto del estudio para, una vez conocida ésta, realizar la toma de muestra

únicamente en aquellos que se encontraran en el estro, y no en los demás.

El ciclo estral de la rata de laboratorio tiene una duración de cuatro a seis días y se repite a lo largo del año (poliestro). Este ciclo se divide en cuatro etapas que pueden identificarse por cambios característicos en el tipo de célula presente en los frotis vaginales.

El frotis se realiza mediante asa de platino, fijando la preparación sobre un portaobjetos con una mezcla de alcohol-éter (1:1), y tiñendo luego con azul de metileno.

Durante la fase del estro se observan microscópicamente, escasos leucocitos, muy pocas células epiteliales y un gran número de células cornificadas, con núcleos picnóticos y citoplasma eosinófilo.

En esta fase pueden observarse imágenes en forma de "hojas de helecho", típicas de la cristalización del moco vaginal. (8), (80), (81).

3.5.2. Glucosa en suero.

La muestra se obtiene por extracción de la sangre directamente del corazón, a los cinco meses de haber realizado la resección, y tras haber comprobado que el animal se encuentra en la fase de estro de su ciclo sexual.

A continuación, la sangre problema se sumerge en un baño maría durante 60 minutos, a 37^o C, para favorecer la retracción del coágulo.

Pasado este tiempo, se centrifuga en una centrífuga Simplex (Heraeus Christ GmbH) a 2800 r.p.m., durante cinco minutos.

Se separa después el suero y se somete a una desproteínezación, para lo cual se trata con ácido perclórico 0,33 N y se vuelve a centrifugar durante otros cinco minutos a 2800 r.p.m. en la misma centrífuga usada anteriormente.

En el líquido sobrenadante que se obtiene tras este proceso se determina la concentración de glucosa, siguiendo el método de la Hexoquinasa.

3.5.3. Glucosa en orina.

Para obtener la orina de los animales se mantuvieron éstos en jaulas especialmente adaptadas a dicho fin (Fotografía nº2), las cuales tienen un sistema que permite la separación perfecta de orina y heces.

Las muestras se recogieron dos veces al día, durante 5 días en cada animal, siempre en las mismas condiciones, y se mantuvieron a 4° C hasta la realización del análisis, que se efectuó diariamente.

Previamente a la determinación analítica, se homogeneizaban y filtraban las dos muestras correspondientes a las 24 horas.

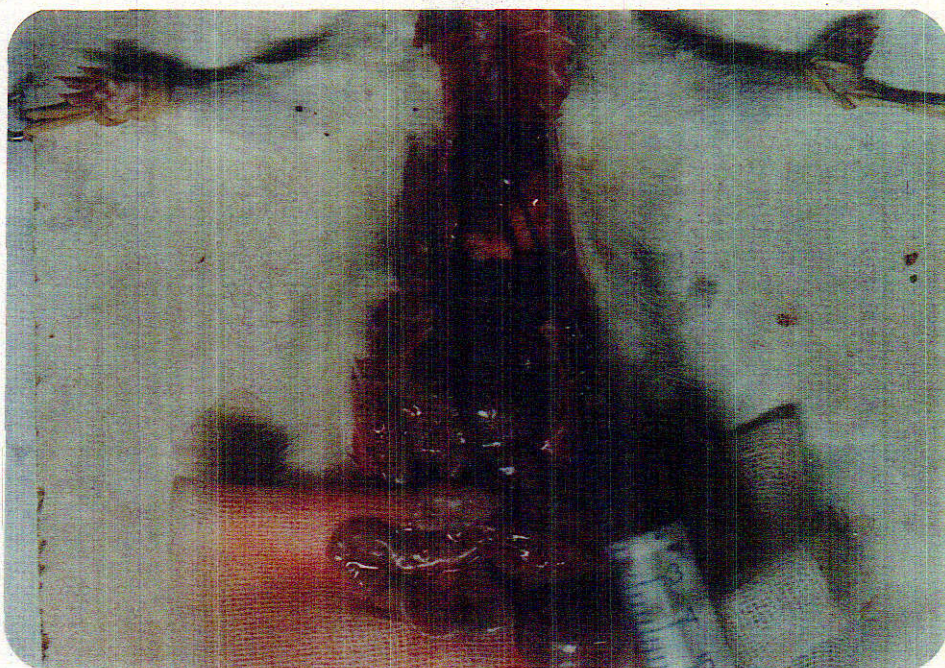
Se han comparado entre sí valores medios de los cinco días y valores máximos en cada uno de los lotes de animales, ya que se han tenido en cuenta las variaciones en la cantidad de glucosa excretada cada 24 horas, debido a la influencia que sobre la misma tiene el ciclo estral en la rata.

3.5.4. Valor hematocrito

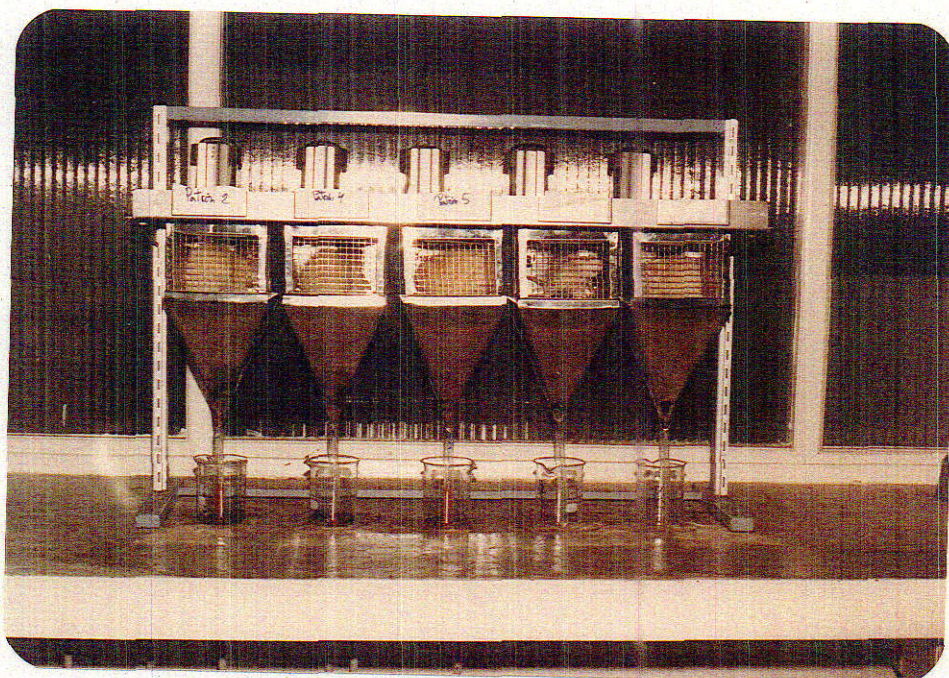
Cuando se extraía la sangre al animal, se recogía además una pequeña cantidad en un capilar con las paredes heparinizadas, con objeto de averiguar el valor hematocrito de la misma.

Para ello, el capilar (con un extremo cerrado), se centrifugaba durante 6 minutos en una microcentrífuga a 11.000 r.p.m., tras lo cual podía medirse directamente el citado valor hematocrito.

Esta determinación se realizó en los tres lotes de animales (intactos, con resección del 50 % y con resección del 80%)



Fotografía 1: Obtención de la sangre.

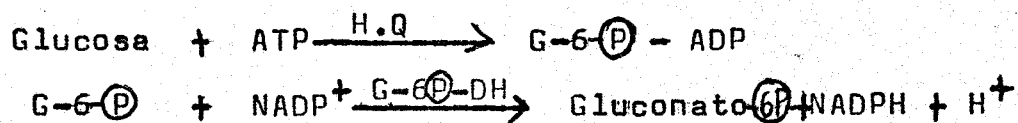


Fotografía 2: Jaulas para la recogida de orina.

3.6. Determinaciones analíticas.

3.6.1. Glucosa en suero

Fundamento de la técnica:



Condiciones de trabajo:

Longitud de onda : 340 nm

Temperatura de reacción : 20-25° C

Medida frente al aire (aumento de Extinción).

Espectrofotómetro: Shmadzu UV-110-02.

Desarrollo de la técnica:

A 100 μ l de una solución que contiene un tampón de NADP/ATP, a pH 7,8, se le añaden 50 μ l del sobrenadante obtenido al desproteinizar el suero problema. Se mezcla y se mide la extinción (E_1).

Se añaden, a continuación 10 μ l de una solución que contiene Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa y hexoquinasa y al cabo de 5,45 minutos se mide la extinción (E_2).

La diferencia de ambas extinciones ($E_2 - E_1$)

es el valor proporcional a la concentración de glucosa existente.

3.6.2. Glucosa en orina.

Se determina por el método de la Ortotoluidina.

Fundamento de la técnica:

La reacción se basa en que el grupo aldehídico de la glucosa se condensa en caliente con una amina primaria, la orto-toluidina, que en medio acético forma un complejo (base de Schiff), cuya intensidad es proporcional a la concentración de glucosa.

Condiciones de trabajo:

Longitud de onda: 620 nm

Temperatura de incubación : 100° C

Tiempo de incubación : 7 minutos

Estabilidad del color: 30 minutos

Lectura frente a blanco de agua destilada.

Espectrofotómetro : Shimadzu UV-110-02.

Desarrollo de la técnica.

A 100 μ l de la muestra, previamente filtrada, se le añaden 3 ml de un reactivo de o-toluidina en medio acético, y se deja reaccionar durante 7 minutos, sumergido todo en un baño maría a 100° C. Pasado este tiempo, se enfría durante 5 minutos en agua fría, y se lee la Extinción, frente a un blanco de agua destilada en las condiciones ya expresadas.

Como patrón se utiliza una solución de glucosa de una concentración de 100mg %, que se trata del mismo modo desarrollado para la muestra problema. Los resultados se obtienen en relación con este patrón.

4.- RESULTADOS

Tabla I : Glucosa en orina . RATAS PATRON

<u>Rata</u>	<u>Flujo de orina ml/24 horas</u>	<u>Concentraci3n de glucosa (mg%)</u>	<u>Cantidad total de glucosa ex- cretada (mg)</u>
1	5,8	91,5567	5,3103
2	4,3	90,5367	3,8931
3	8,9	66,4894	5,9175
4	3,2	140,4092	4,4931
5	3,4	150,9308	5,1316
6	3,1	152,7631	4,7357
7	2,4	192,7631	4,6263
8	10,7	33,0623	3,5377
9	4	112,0104	4,4804
10	11,4	52,2546	5,9570

Media = 4,8083 \pm 0,5644

Tabla II: Glucosa en orina . RATAS CON RESECCION DEL 50 %

<u>Rata</u>	<u>Flujo de orina ml/24 horas</u>	<u>Concentración de glucosa (mg%)</u>	<u>Cantidad total de glucosa ex- cretada (mg)</u>
1	3,2	372,9381	11,9340
2	4,6	105,3299	4,8452
3	6,5	137,9747	8,9683
4	10,5	91,7721	9,6361
5	4,5	376,5823	16,9462
6	5,2	99,7468	5,1868
7	4,8	193,2816	9,2775
8	7,3	67,5532	4,9314
9	6,7	215,4255	14,4335
10	2,4	297,0745	7,1298
Media =			9,3289 ± 2,9417

Tabla III: Glucosa en orina. RATAS CON RESECCION DEL 80 %:

<u>Rata</u>	<u>Flujo de orina ml/24 horas</u>	<u>Concentración de glucosa (mg%)</u>	<u>Cantidad total de glucosa ex- cretada (mg)</u>
1	17,1	24,7475	4,2318
2	4	319,9488	12,7979
3	10,9	86,0962	9,3845
4	6,7	229,3651	15,3675
5	3,1	195,5224	6,0612
6	2	327,9200	6,5584
7	2,8	303,0848	8,4864
8	3,2	107,1979	4,1807
Media =			8,4618 ± 3,3580

TABLA IV
CONCENTRACION DE GLUCOSA EN SANGRE
RATAS PATRON

<u>Rata</u>	<u>Concentración (mg%)</u>
1	57,246
2	150,024
3	263,858
4	156,604
5	99,358
6	233,590
7	196,084

Media: 165,252 ± 67,1815

TABLA V
CONCENTRACION DE GLUCOSA EN SANGRE
RATAS CON RESECCION DEL 50 %

<u>Rata</u>	<u>Concentración (mg%)</u>
1	234,906
2	174,370
3	162,526
4	303,996
5	128,968
6	203,980
7	336,896
8	397,432
9	133,574

Media: 230,7387 ± 73,4456

TABLA VI
CONCENTRACION DE GLUCOSA EN SANGRE
EN RATAS CON RESECCION DEL 80%

Rata Concentración (mg%)

1 123,704

2 230,300

3 210,560

4 121,730

5 266,490

6 132,916

7 122,388

8 166,474

Media: 171,8202 ± 47,6082

Tabla VII: mg de glucosa excretados cada 24 horas,
a lo largo de 5 días. RATAS PATRON

<u>Rata</u>	<u>1^{er} día</u>	<u>2^o día</u>	<u>3^{er} día</u>	<u>4^o día</u>	<u>5^o día</u>
1	3,5375	5,3103	4,4291	2,5999	3,6252
2	2,0012	2,9582	1,6818	3,8931	3,5019
3	3,3108	1,9426	1,5968	2,1644	5,9175
4	4,3617	3,1307	3,8316	4,4931	0,7284
5	2,3018	0,9687	1,2543	1,7782	5,1316
6	0,6705	2,4130	2,0709	4,7357	1,0111
7	4,1484	3,1689	1,1690	4,6263	2,6932
8	2,1303	3,5377	2,0373	3,3105	1,0549
9	4,4804	0,6292	3,2666	3,4300	1,2590
10	1,4914	4,6096	0,9441	1,2000	5,9570

Tabla VIII:mg de glucosa excretados cada 24 horas
a lo largo de 5 días. RATAS CON RESECCION DEL 50%

<u>Rata</u>	<u>1^{er} día</u>	<u>2^o día</u>	<u>3^{er} día</u>	<u>4^o día</u>	<u>5^o día</u>
1	0,9644	11,9340	4,3434	3,0861	4,2076
2	1,0366	4,4335	3,4159	2,1829	4,8452
3	6,0450	8,9683	6,1849	2,3880	4,6250
4	3,5504	9,6361	4,7663	2,1409	4,2758
5	8,3933	16,9462	13,0801	8,1054	13,3615
6	3,1109	5,1868	4,6981	3,0141	4,9763
7	3,7408	7,7225	9,2775	3,4706	7,9545
8	1,4606	1,0560	3,1508	2,8421	4,9314
9	2,8784	5,5909	14,4335	6,5812	2,1866
10	4,4943	2,5172	2,3814	5,2331	7,1298

Tabla IX : mg de glucosa excretados cada 24 horas
a lo largo de 5 días. RATAS CON RESECCION DEL 80 %

<u>Rata</u>	<u>1^{er} día</u>	<u>2^o día</u>	<u>3^{er} día</u>	<u>4^o día</u>	<u>5^o día</u>
1	3,1975	2,3162	2,7091	4,2318	4,0410
2	8,7731	11,1069	12,7979	10,8586	0,5460
3	1,6799	9,3845	6,3749	1,0076	3,1813
4	15,3675	8,0294	12,8941	13,5663	14,3134
5	1,6143	2,7999	3,8704	2,9447	6,0612
6	4,9247	5,9283	0,7531	5,8327	6,5584
7	3,6822	7,8696	8,4864	3,3644	2,4538
8	2,5845	2,7417	4,1807	3,2858	2,4041

Tabla X : Flujo de orina (ml/24 horas) a lo largo de
5 días. RATAS PATRON

<u>Rata</u>	<u>1^{er} día</u>	<u>2^o día</u>	<u>3^{er} día</u>	<u>4^o día</u>	<u>5^o día</u>
1	4,7	5,8	8,7	2,3	1,0
2	9,4	10,1	3,7	4,3	11,4
3	8,9	1,9	2,9	2,6	8,9
4	6,2	3,5	6,4	3,2	2,2
5	4,0	2,7	4,9	1,7	3,4
6	2,4	2,4	3,8	3,1	0,8
7	4,3	1,3	1,8	2,4	2,1
8	8,2	10,7	10,2	8,5	4,1
9	4,0	0,6	2,4	1,4	1,1
10	9,6	16,2	8,6	3,0	11,4

Tabla **IA** : Concentración de glucosa en orina (mg %) a lo largo de 5 días. RATAS PATRON

<u>Rata</u>	<u>1^{er} día</u>	<u>2^o día</u>	<u>3^{er} día</u>	<u>4^o día</u>	<u>5^o día</u>
1	75,2659	91,5567	50,9091	113,0435	105,6150
2	21,2938	29,2876	45,4545	90,5371	30,7181
3	37,1968	102,2428	55,0649	83,2481	66,4894
4	70,3504	89,4459	59,8703	140,4092	33,1117
5	57,5472	35,8839	25,9740	104,6036	150,9308
6	27,9373	100,5420	54,4970	152,7631	126,3925
7	96,4751	243,7660	64,9470	192,7631	128,2493
8	25,9791	33,0623	19,9735	38,9473	25,7294
9	112,0104	104,8780	136,1110	245,0000	114,4562
10	15,5352	25,0677	10,9788	40,0000	52,2546

Tabla XI : Flujo de orina (ml/24 horas) a lo largo de
5 días. RATAS CON RESECCION DEL 50 %.

<u>Rata</u>	<u>1^{er} día</u>	<u>2^o día</u>	<u>3^{er} día</u>	<u>4^o día</u>	<u>5^o día</u>
1	2,0	3,2	4,4	3,5	0,9
2	2,1	6,1	8,8	3,7	4,6
3	5,1	6,5	3,2	2,3	3,3
4	17,3	10,5	9,2	4,6	10,2
5	3,5	4,5	4,0	3,4	4,3
6	3,7	5,2	5,1	3,9	5,9
7	7,3	4,1	4,8	0,8	3,5
8	4,8	4,1	6,6	2,6	7,3
9	15,3	13,5	6,7	2,7	2,9
10	3,5	2,8	2,2	2,9	2,4

Tabla II A: Concentración de glucosa en orina (mg %) a lo largo de 5 días. RATAS CON RESECCION DEL 50%

<u>Rata</u>	<u>1^{er} día</u>	<u>2^o día</u>	<u>3^{er} día</u>	<u>4^o día</u>	<u>5^o día</u>
1	40,223	372,938	98,714	88,175	467,512
2	49,365	72,680	38,817	58,997	104,822
3	118,530	137,975	193,280	103,827	140,1515
4	20,522	91,772	51,808	46,543	41,999
5	239,810	376,582	327,002	238,395	310,732
6	84,029	99,747	92,1188	77,284	84,343
7	51,244	188,354	193,2816	433,827	227,273
8	30,429	25,757	47,739	109,308	67,553
9	18,813	41,414	215,425	243,750	75,399
10	128,409	89,899	108,244	180,452	297,074

TABLA : XII: Flujo de orina (ml/24 horas) a lo largo de
5 días. RATAS CON RESECCION DEL 80 %

<u>Rata</u>	<u>1^{er} día</u>	<u>2^o día</u>	<u>3^{er} día</u>	<u>4^o día</u>	<u>5^o día</u>
1	15,3	6,3	1,9	17,1	14 ,7
2	2,5	4,0	4,0	2,0	0,2
3	13,3	10,9	10,3	7,0	6,3
4	6,7	2,1	3,2	2,9	4,0
5	3,6	8,8	1,9	3,9	3,1
6	6,3	2,8	0,3	2,3	2,0
7	2,6	2,1	2,8	1,5	0,8
8	9,3	3,6	3,2	2,8	1,6

Tabla IIIA : Concentración de glucosa en orina (mg %) a lo largo de 5 días. RATAS CON RESECCION DEL 80%

<u>Rata</u>	<u>1^{er} día</u>	<u>2^o día</u>	<u>3^{er} día</u>	<u>4^o día</u>	<u>5^o día</u>
1	20,899	36,765	142,583	24,747	27,487
2	350,926	277,673	319,949	542,929	273,009
3	12,631	86,096	61,892	14,394	50,497
4	229,365	382,353	402,941	467,803	357,836
5	44,841	31,818	203,708	75,505	195,522
6	78,172	211,726	251,028	253,598	314,721
7	141,624	374,742	303,085	224,293	306,726
8	27,790	76,159	107,198	117,352	150,254

TABLA XIII

VALORES HEMATOCRITOS

RATAS PATRON

<u>Rata</u>	<u>Hematocrito</u>
1	46,50
2	48,15
3	45,45
4	46,22
5	49,41
6	52,80
7	45,70

Media: 47,75 ± 2,44

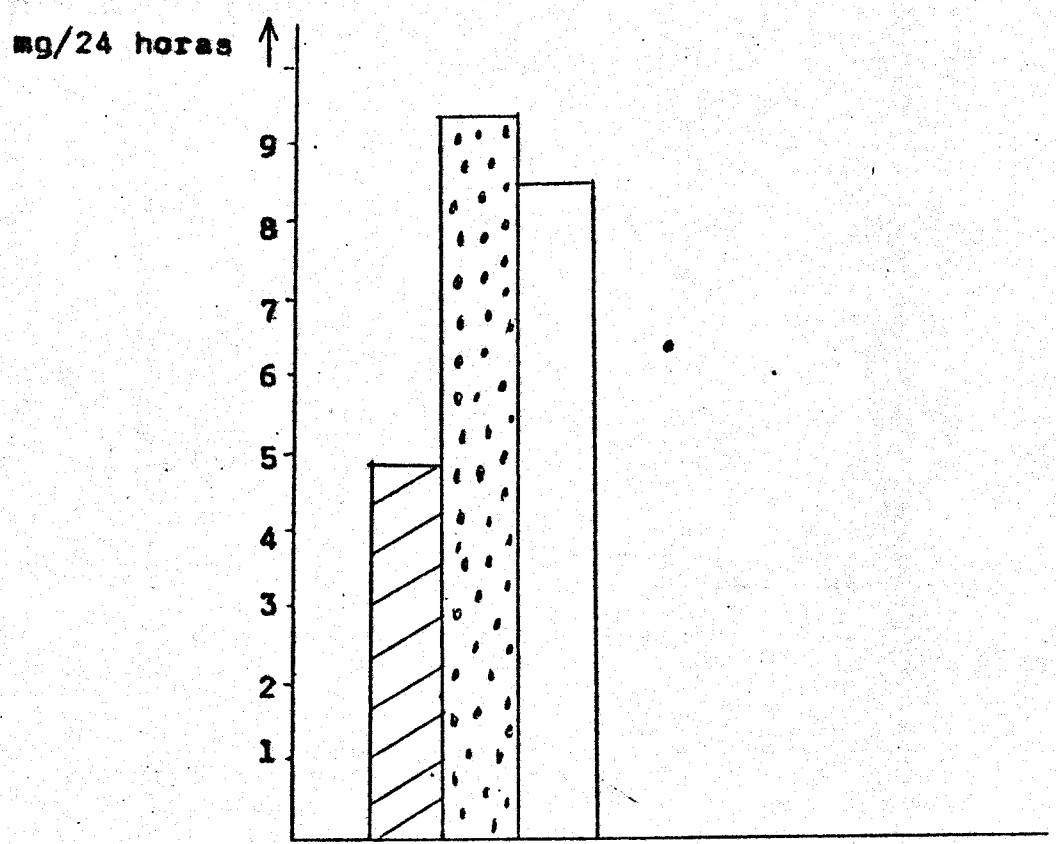
TABLA XIV : VALORES HEMATOCRITO DE RATAS OPERADAS

Ratas con resección del 50%

Ratas con resección del 80%

<u>Rata</u>	<u>Hemat. (%)</u>	<u>Rata</u>	<u>Hemat. (%)</u>
1	44,80	1	37,70
2	38,46	2	46,15
3	47,43	3	42,37
4	50,00	4	45,94
5	49,00	5	38,36
6	39,51	6	40,35
7	40,00	7	45,91
8	44,28		
<hr/>		<hr/>	
MEDIAS:	44,19 ± 3,737		42,40 ± 3,41

CANTIDAD MAXIMA DE GLUCOSA EN ORINA



Datos de las
Tablas I, II y III.




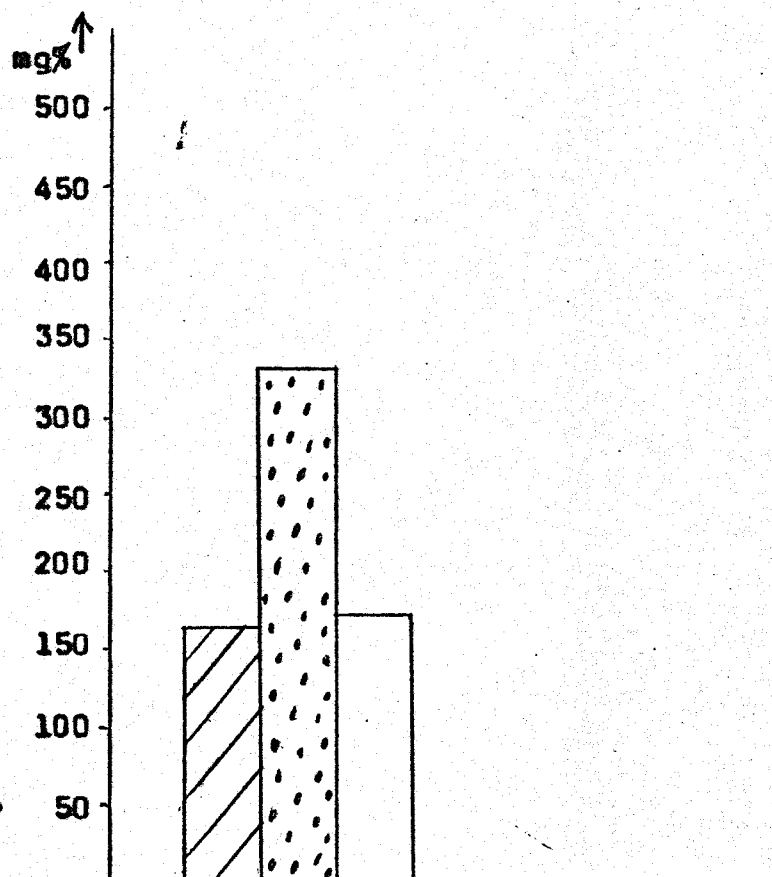
-  : Ratas patrón
-  : Ratas con resección del 50 %
-  : Ratas con resección del 80 %

Figura I

CONCENTRACION DE GLUCOSA EN SANGRE



DATOS DE LAS

TABLAS IV, V y VI.



: Ratas patrón



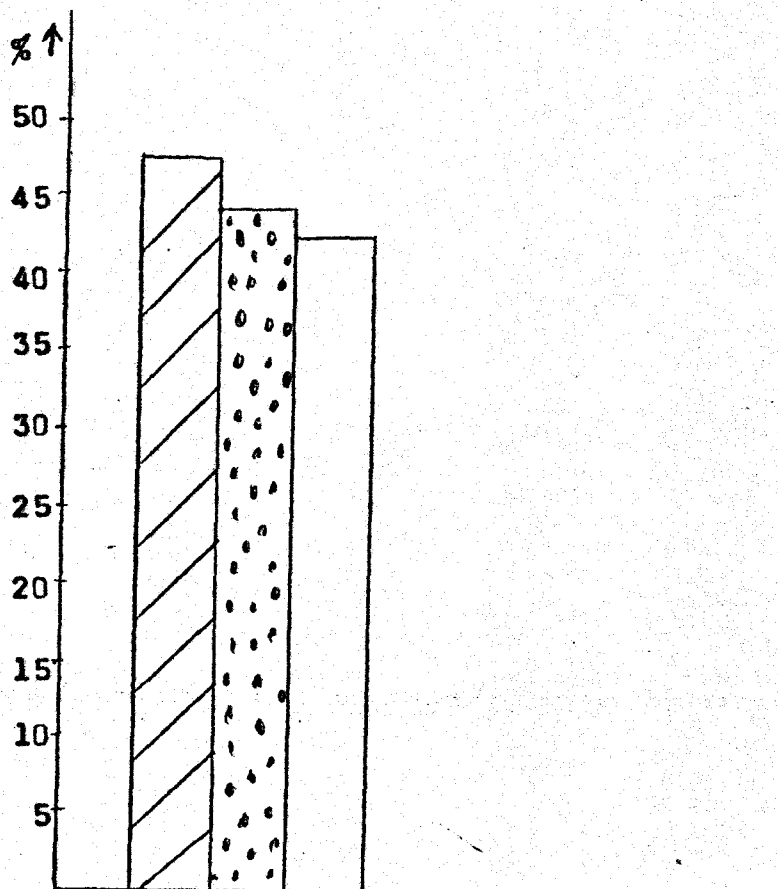
: Ratas con resección del 50 %



: Ratas con resección del 80 %

Figura II

VALORES HEMATOCRITO



Datos de las tablas

XIII y XIV.




-  : Ratas patrón
-  : Ratas con re-sección del 50
-  : Ratas con re-sección del 80

Figura III

5.- DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Glucemia y glucosuria

De acuerdo con los datos expresados en el apartado anterior, podemos apreciar claramente, que la exclusión del 50 % u 80 % de intestino delgado a partir de la válvula ileocecal y en dirección craneal, produce una variación en los niveles de glucemia, que se traduce por un aumento de la glucosa en sangre tras la resección del 50% de intestino delgado, mientras que en la resección del 80% este aumento es casi inapreciable respecto a los valores patrones (Tablas IV, V y VI).

Según los estudios de Bailey y Matty(5), durante el ciclo estral de la rata se producen modificaciones en la secreción de insulina y glucagón. Por este motivo, hemos analizado la glucosa contenida en la orina de 24 horas durante 5 días consecutivos, que es lo que, por término medio dura el ciclo estral a estos animales. Hemos considerado que el valor máximo de estos cinco días coincide con el mismo período del ciclo estral (5), por ello, para hacer el estudio estadístico de estos cambios hemos tomado los valores máximos de glucosuria obtenidos durante este período (Tablas I, II y III).

Los valores así encontrados demuestran que tam-

bién se producen cambios de los niveles de glucosa en orina tras la exclusión de parte del intestino delgado, siendo éstos más significativos ($\alpha = 0,005$) en la resección del 50 %, que en la del 80 % ($\alpha = 0,05$).

Pensamos que estas modificaciones pueden ser debidas a varios factores, que podíamos agrupar de la siguiente forma:

a) Factores que dependen de cambios de absorción producidos tras la resección. Pues, como demostraron Reynell y Spray (139), mientras que la resección del 50 % de intestino delgado varía muy poco la absorción intestinal, la exclusión del 80 % del mismo produce una notable disminución de la absorción de este Hidrato de Carbono, lo que podría explicar, al menos en parte, que los niveles de glucosa sean menores a medida que aumenta la longitud de intestino resecaado.

b) Interacciones entre el páncreas endocrino y el exocrino.

Según diversos autores (6), (27), (41), (49), (65) y (169) existe una aguda interrelación entre las células acinares y los islotes pancreáticos, de forma que una alteración del

parénquima exocrino, produce alteraciones de los islotes.

La exclusión del 50 u 80 % de intestino delgado produce unas alteraciones en las secreciones del páncreas exocrino, ya que hay una disminución de los niveles de amilasa (111). Pensamos que, en parte, esta alteración de los acinis pancreáticos debe modificar de una forma aún no bien clarificada la actividad de los islotes pancreáticos, como lo demostró Siparov (147), al comprobar que tras la resección intestinal se producen alteraciones histológicas del páncreas exocrino y endocrino.

c) Pérdida de sustancias insulínótropicas (secretina, gastrina, PZ-CCK, GIP) y glucagonotrópicas (GIP, PZ-CCK), segregadas en el yeyuno o íleon resecados. Pues aunque las hormonas gastrointestinales que participan en el eje enteroinsular se localizan, preferentemente, en la parte superior del intestino delgado, algunas de éstas pueden ser suprimidas, al menos en parte, debido a la resección ileal (resección del 50 %) o yeyuno-ileal (resección del 80 %).

Estas pérdidas pueden influir grandemente en la vía enteroinsular, lo que finalmente conduciría a un desorden funcional de las células de los islotes (10), lo que se corro-

borá por los estudios de Tamura et al. (156), según los cuales la resección del yeyuno produce un deterioro de las células B de los islotes debido a la interrupción prolongada del eje enteroinsular.

Lo que resulta más difícil de interpretar es el hecho, expuesto anteriormente, de que los niveles de glucosa en sangre sean mayores tras la resección del 50 % que tras la del 80 %. No obstante, ésto podría ser debido a la gran disminución en la absorción intestinal de glucosa tras la resección del 80 %, lo que llevaría a una disminución de la glucemia.

Pero también podría contribuir el hecho de que al quitar una gran longitud de intestino delgado, que incluye además del íleon, prácticamente todo el yeyuno, disminuya más la secreción de GIP (156), que a su vez, incrementa los niveles de glucagón, lo que traería como consecuencia una disminución de la concentración de glucagón y, por tanto, de la glucemia.

Además hay que tener en cuenta que la resección produce un importante desequilibrio en la liberación de las

hormonas gastrointestinales (10) y, por tanto, una modificación en los mecanismos de regulación del eje enteroinsular.

Hematocrito

Al comparar los resultados obtenidos en las determinaciones de los valores hematocrito en las tres condiciones experimentales (ratas intactas, con resección del 50% y del 80 %), es evidente que, mientras la exclusión de la mitad del intestino apenas si lo modifica, la resección del 80 % produce una disminución altamente significativa ($\alpha = 0,005$), lo que puede atribuirse a que después de la resección del 50%, el intestino restante es capaz de compensar las pérdidas absorptivas producidas por la resección de la otra mitad, mientras que tras la resección del 80 %, la hipertrofia del intestino remanente es insuficiente para compensar estas deficiencias en la absorción. Deficiencias que van a afectar en particular a la absorción de proteínas y vitaminas, tales como la B₁₂ y el ácido fólico, y a los iones del hierro, implicados todos ellos en la formación de los eritrocitos (Tablas XIII y XIV).

6.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se han estudiado los cambios que se producen en los niveles de glucosa orgánica como consecuencia de la resección del 50 % u 80 % de intestino delgado distal a partir de la válvula ileocecal, y en dirección craneal.

Para ello hemos determinado, tanto en las ratas intactas, como en las que se les privaba de intestino (50 % u 80 %, respectivamente), los niveles de glucosa en sangre durante el estro y la excreción de glucosa por orina durante todo el ciclo estral.

Además, se han analizado los valores hematocrito en las tres condiciones experimentales, es decir, en las ratas patrones (intactas) y en las ratas con resección del 50 % y del 80 % de intestino delgado.

De nuestros experimentos concluimos:

Conclusión 1ª:

La exclusión del 50 % distal de intestino delgado produce un aumento patente, aunque no significativo, de la glucemia.

Conclusión 2ª :

La resección del 80 % de intestino delgado distal no produce ningún cambio apreciable, respecto a las ratas patrones en dichos valores de glucemia.

Conclusión 3ª :

La exclusión de la mitad distal del intestino delgado produce un incremento muy significativo de la glucosuria.

Conclusión 4ª :

La resección del 80 % aumenta los niveles de glucosa en orina respecto a las ratas intactas, pero son menores que los valores obtenidos tras la resección del 50 %.

Conclusión 5ª :

Cuando a las ratas se les priva de la mitad distal del intestino delgado, prácticamente no varía el valor hematocrito respecto a las ratas patrones, pero, por el contrario, cuando aumentamos la longitud de intestino resecado (80 %), disminuye significativamente el citado valor.

7.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- ABE, K.- *Hirosaki Med*: 29 (1), 33-60, 1977. Tomado de:
 Excerpta Medica (Endocrinology), 39, art. 1728,
 1978.
- 2.- ADLER, G. and KERN, H.F.- *Horm. Metab. Res*: 7(4), 290-96, 1975.
- 3.- ANDERSEN, D.K., ELAHI, D., BROWN, J.C. et al.- *Journal Clin. Invest.*: 62(1), 152-161, 1978.
- 4.- BACCHUS, R.A., MEADE, L., HUTCHINSON, J.S.M. and LONDON, D.R.-
 J. Endocr.: 58(1), 111-22, 1973.
- 5.- BAILEY, C.J. and MATTY, A.J.- *Horm. Metab. Res.*: 4, 266-70, 1972
- 6.- BANKS, S.- *Scand. J. Gastroent.*: 7(6), 503-7, 1972.
- 7.- BANSAL, D.D., BAJAJ, J.S., MC-MASTER, D. and VALLANCE OWEN, J
 .- *Irish. J. Med. Sci.*, 144(10), 375-78, 1975.
 Sacado de *Excerpta Medica (Endocrinology)*, 36,
 art. 666, 1977.
- 8.- BARASTEGUI ALMAGRO, C.- *Esquemas y Prácticas de Farmacología*. Ed. Espaxs, Publicaciones Médicas, Barcelona, 1976, pág. 242.

- 9.- BARRINGTON, E. J. W.- Introducción a la Endocrinología General y Comparada. Hermann Blume Ediciones, Madrid, 1977, pág. 29
- 10.- BARROS, D`SA, A. A. B. and BUCHANAN, K. D.- Gut, 18(11), 877-81, 1977.
- 11.- BEGER, H. C., BITTNER, R., KRAAS, E. and GERHARDS, E.- Langenbecks Arch. Chir., Sup. 73, 37-41, 1973. Tomado de Excerpta Medica (Endocrinology), 31, art. 1413, 1974.
- 12.- BERSIN, T.- Bioquímica de las hormonas. Revista de Occidente, Madrid, 1964, pág. 171.
- 13.- BESSON, J. LABURTHE, M.; BATAILLE, D. et al.- Acta Endocrinol., 87(4), 799-810, 1978.
- 14.- BIERWOLF, B. and BLECH, W.- Acta Biol. Med. Germ, 35(3), 421-438, 1976.
- 15.- BLOOM, S. R.- Postgrad. Med. J., 49(Sup. 6), 607-611, 1973.
- 16.- BLOOM, S. R., EDWARDS, A. V. and HARDY, R. N.- J. Physiol, 280, 9-23, 1978.
- 17.- BORSY, J., ANDRASI, F. and KOSA, E.- Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., 47(4), 323-333, 1976. Sacado de Excerpta Medica (Physiology), 40, 495, 1978.
- 18.- BOWEN, V., LAZARUS, N. R.- Diabetes: 22, 738-43, 1973.
- 19.- BROOKS, F. P.- Jama, 1(8), 693-4, 1975.

- 20.- BROWN, J.C.- Gastroenterology: 67(4), 733-4, 1974.
- 21.- BRYANT, G., BLOOM, S.R., POLAK, J.M. et al.-Lancet: 1(7967), 991-3, 1976.
- 22.- CAMPILLO, J.E.-XVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas, 4ª Ponencia, Valencia, 1979.
- 23.- CARTER, R.F., BITAR, K.N., ZFAS, A.M. and MAKHLOUF, G.M.- Gastroenterology: 74(4), 726-30, 1978.
- 24.- CATALANDS, S., CROCKETT, S.E., BROWN, J.C. and MAZZAFERRI, E.L.-J.Clin.Endocr.: 39(2), 223-8, 1974.
- 25.- CHOU, C.C., HSIEH, C.P. and DABNEY, J.M.-Amer.J.Physiol.: 232(2), H103-H109, 1977.
- 26.- CORRING, T.-Ann.Biol.Anim.Biochim.Biophys.: 14(3), 487-498, 1974.
- 27.- COSTA, P.L., VENTRUCCI, M., FONTANA, G. & GULLO, L.-Min.Diet. Gastr: 25(1), 110, 1979.
- 28.- COUTURE, Y., DUNNIGAN, J. and MORISSET, J.-Scand.J.Gastroent: 7(3), 257-263, 1972.
- 29.- CREUTZFELD, W.-Gastroenterology: 67(4); 748-50, 1974.
- 30.- CREUTZFELD, W.-Diabetologia; 16, 75-85, 1979.
- 31.- CURRY, D.L.- Am.J.Physiol.: 220, 319-23, 1971.
- 32.- DANIELSSON, A.-Pflug.Arch.Eur.J.Physiol.: 348(4), 333-42, 1974. Tomado de Excerpta Medica(Physiology) 33 art. 1415, 1975.

- 33.- DANIELSSON, A. and LENMARK, A.- Diabetologia: 10(5), 407-9, 1974.
- 34.- DANIELSSON, A. and SEHLIN, J.-Acta Phisiol.Scand: 91(4), 557-65, 1974.
- 35.- DAVIS, B. and LAZARUS, N.R.-J.Physiol: 256(3), 709-29, 1976.
- 36.- DEMOL, B. and SARLES, H.-J physiol: 275(27-37) 1978.
- 37.- DESCHODT LANCMAN, M., ROBBERECHT, P., DE NEEF, P. et al.- Gastroenterology: 68(2), 318-25, 1975.
- 38.- DUPRE, J., ROSS, S.A., WATSON, D. and BROWN, J.C.-J.Clin.Endocr: 37(5), 826-8, 1973.
- 39.- DUPRE, J., GREENIDGE, N., MC-DONALD, T.J. et al.-Metabolism: 25(11), 1197-9, 1976.
- 40.- EBERT, R., ILLMER, K. and CREUTZFELDT, W.-Gastroenterology: 76(3), 515-23, 1979.
- 41.- EBERT, R., CREUTZFELDT, W., BROWN, J.C. et al.-Diabetologia: 12(6), 609-12, 1976.
- 42.- ELOY, R., GARAUD, J.C., MOODY, A. et al.-Horm.Metabol.Res: 7(6), 461-7, 1975.
- 43.- ENK, B., KOLENDORF, K. and DECKERT, T.-Ugeskr.Laeg: 134(49), 2577-80. 1972, Tomado de: Excerpta Medica (Endocrinology), 32, art.1952, 1. 975.
- 44.- ERLANDSEN, S.L., HEGRE, O.D., PARSONS, J.A. et al.-J.Histochem. Cytochem: 24(7), 883-97, 1976.

- 45.- ESCOBAR, F., HAWKINS, F.G. y SERRANO RIOS, M.-XIX Reunión Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas. Comunicación 10.7., Sevilla, 1973.
- 46.- FINDLAY, D.M. et al.-J.Clin.Endocrinol.Metab.:48(1), 13-16, 1979.
- 47.- FOELSCH, U.R. and CREUTZFELDT, W.-Gastroenterology:73(5), 1053-9, 1977.
- 48.- FOELSCH, U.R., LANKISCH, P.G. and CREUTZFELDT, W.-Digestión: 17(3), 194-203, 1978.
- 49.- FRIER, B.M., FABER, O.K., BINDER, C. and ELLIOTT, H.L.-Diabetologia:14(5), 301-4, 1978.
- 50.- FRIESEN, S.R., BOLINGER, R.E. and KYNER, J.L.-Surgery:76(5), 804-10, 1974.
- 51.- FRIESEN, R.H., FRAZIER, R.L., LUKERT, B.P. et al.-Surg.Forum: 23, 367-9, 1972. Tomado de: Excerpta Medica (Endocrinology) 32, art. 358, 1975.
- 52.- FROHMAN, L.A. and BERNARDIS, L.L.-Am.J.Physiol:221, 1596-603, 1971.
- 53.- FUBGANGER, R.D., STRAUB, K., GOBERNA, R., JAROS, P., SCHRODER, K.E., RAPTIS, S. and PFEIFFER, E.F.-Horm.Metab.Res:1, 224-7, 1969.
- 54.- FUJIMOTO, W.Y., ENSINCK, J.W., MERCHANT, F.W. et al.-Proc.Soc. Exp.Biol.Med.:157(1), 89-93, 1978. Tomado de: Excerpt-

- ta Medica(Endocrinology),40,art.2898,1979.
- 55.- GAIA,E.,MORELLO,C.,CARTA,Q.,CASELLE,M.T. e DANI,F.-
Mim.Diet.Gastr.:25(2),167-72,1979.
- 56.- GAMBIR,K.K.,ARCHER,J.A. and BRADLEY,C.J.-Diabetes:27(7),
701-8,1978.
- 57.- GANONG,W.F.- Manual de Fisiología Médica.-Ed. El Manual
Moderno(5ª Edición),México,1976,pág. 287.
- 58.- GEPTS,W. and DE MEY,J.-Diabete Metabol:4(4),275-85,1978.
- 59.- GEPTS,W. and DE MEY,J.-Diabetes:27(Suppl.1),251-61,1978.
- 60.- GERICH,J.E.-Arch.Intern.Med.:137(5),659-66,1977.
- 61.- GERICH,J.E.,CHARLES,M.A. and GRODSKY,G.M.-J.Clin.Invest:
54,833-41,1974.
- 62.- GERICH,J.E.,CHARLES,M.A. and GRODSKY,G.M.-Ann.Re.Physiol:
38(353-88),1976.
- 63.- GERICH,J.E.,LOVINGER,R. and GRODSKY,G.M.-Endocrinology:
96,749-54,1975.
- 64.- GLIEMAN,J.-Rev.Clin.Española:148(6),597-602,1978.
- 65.- GOBERNA,R.-Invest. y Ciencia.:21,92-103,1978.
- 66.- GOBERNA,R.-XVIII Congreso Nacional de la Sociedad Espa-
ñola de Ciencias Fisiológicas.4ª Ponencia,Valen-
cia,1979.
- 67.- GREEN,I.C.,HOWELL,S.L.,EL SEIFI,S. and PERRIN,D.-
Diabetologia:15(4),349-55,1978.

- 68.- GREEBERG, G.R., MITNEGG, P. and BLOOM, S.R.-*Experientia*:
33(10), 1332-33, 1977.
- 69.- GUYTON, A.C.-*Tratado de Fisiología Médica*. Ed. Interamericana (5ª Edición), Madrid, 1977. pág. 1030.
- 70.- HAHN, H.J., GOTTSCHLING, H.D. and WOLTANSKI, P.-*Metab.Clin. Exp.*: 27(9), Suppl.1, 1291-94, 1978.
- 71.- HARANO, Y., KIM, C.I., KANG, M. et al.-*Lab.Clin.Med.*: 91(5), 780-90, 1978.
- 72.- HARTMANN, W. and HOTZ, J.-*Digestion*: 10(1), 9-16, 1974.
- 73.- HATFIELD, H.H., BANASIAK, M.F., DRISCOLL, T. et al.-
J.Clin.Endocrinol.Metab.: 44(6), 1080-87, 1977.
- 74.- HAUSAMANT, T.U. and FRITSCH, W.P.-*Z.Gastroenterol.*: 15(5), 320-34, 1977. Sacado de: *Excerpta Medica (Endocrinology)*, 38, Artículo 3815, 1978.
- 75.- HELLMAN, B., SEHLIN, J., TALJEDAL, I.B.-*Am.J.Physiol.*: 221, 1795-1801, 1971.
- 76.- HENQUIN, J.C.-*Louvain Med.*: 92(6), 309-20, 1973. Tomado de: *Excerpta Medica (Endocrinology)* 30, art.3629, 1974.
- 77.- HENQUIN, J.C.-*Endocrinology*, 1978. Tomado de: *Excerpta Medica (Endocrinology)*, 40, art.2900, 1979.
- 78.- HERMAN, L., SATO, T. and HALES, C.N.-*J.Ultrastruct.Res.*: 42(3-4), 298-311, 1973.

- 79.- HERRERA, E. et al.-Fundamentos de Fisiología Animal.-
EUNSA, Pamplona, 1979, Tomo II, p. 467.
- 80.- HOAR, W.S.-Fisiología General y Comparada.-Edic. Omega,
Barcelona, 1978, p. 765.
- 81.- HOAR, W.S. y HICKMAN Jr., C.P.-Manual de Laboratorio para
Fisiología General y Comparada.-Edic. Omega,
Barcelona, 1978, p. 243.
- 82.- HORROBIN, D.F.-Fisiología y Bioquímica Médicas.-Ed. Sal-
vat, Barcelona, 1976, p. 272.
- 83.- HOWITZ, D.L., RUBENSTEIN, A.H. and KATZ, A.I.-Diabetes: 26(1)
30-35, 1977.
- 84.- IPP, E., DOBBS, R.E., HARRIS, V., et al.-J.Clin. Invest.: 60(5)
1216-19, 1977.
- 85.- JACOBY, J.H. and BRYCE, G.F.-Arch. Int. Physiol. Biochim:
235(2), 254-70, 1978.
- 86.- JENSEN, D.-Fisiología. Ed. Interamericana, México, 1979.
pág. 1034.
- 87.- KACHELHOFFER, J., MARESCAUX, J., MICHEL, F. et GRENIER, J.F.-
Gastroenterol. Clin. Biol., 3(4), 381-96, 1979.
- 88.- KANETO, A., MIKI, E., KOSAKA, K.-Endocrinology: 95, 1005-1010,
1974.
- 89.- KANETO, A., KAJINUMA, H., HAYASHI, M. and KOSAKA, K.-Endocr.
Jap.: 20(6), 609-17, 1973. Tomado de: Excerpta Me-
dica (Endocrinology) 32, art. 677, 1975.

- 90.- KAWAI, A. and KUZUYA, N.-Horm. Metab. Res.: 9(5), 361-5, 1977.
- 91.- KORKC, M., SANKARAN, H., WRONG, K. Y. et al.-Biochem. Biophys. Res. Commun.: 84(2), 293-9, 1978.
- 92.- LARSSON, L. I., FAHRENKRUG, J., HOLST, J. J. and SCHAFFALITZKY, O. B.-Life Sci.: 22(9), 773-9, 1978.
- 93.- LECLERCQ MEYER, V., MARCHAND, J. and MALAISSE, W. J.-Diabetologia: 12(5), 531-8, 1976.
- 94.- LECLERCQ MEYER, V., MARCHAND, J. and MALAISSE, W. J.-Horm. Res: 7(6), 348-62, 1976.
- 95.- LEVIN, S. R., CHARLES, M. A., O'CONNOR, M. and GRODSKY, G. M.-Am. J. Physiol: 229, 49-54, 1975.
- 96.- LEVIN, S. R., GRODSKY, G. M., SMITH, D., HAGURA, R. and FORSHAM, P. Endocrinology: 90, 624-31, 1972.
- 97.- LINDKAER, J. S., FAHRENKRUG, J., HOLST, J. J., KUHL, C., VAGN NIELSEN, O. and SCHAFFALITZKY, O. B.-Am. J. Physiol: 235(4), E381-86, 1978.
- 98.- LINDKAER, J. S., FAHRENKRUG, J., HOLST, J. J., KUHL, C., VANG NIELSEN, O. and SCHAFFALITZKY, O. B.-Am. J. Physiol: 235(4), E387-91, 1978.
- 99.- LOPEZ, M. A. y ESTELLER, A.-XVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas, 4ª Pomenencia, Valencia, 1979.

- 100.- LOUBATIERES-MARIANI, M.M., CHAPAL, J. and VALETTE, G.-
C.R.Seances Soc.Biol.Ses.Fil:171(4), 864-9, 1977.
Tomado de Excerpta Medica(Endocrinology), 39, art.
2499, 1978.
- 101.- MAIER, V. and PFEIFFER, E.F.-Horm.Metab.Res:10(3), 177-82,
1978.
- 102.- MAILLET, M.-Histología e Histofisiología Humanas.-Edit.
A.C., Madrid, 1980. Vol. II, p.54.
- 103.- MALAISSE, W.J., BRISSON, G.R. and MALAISSE-LAGAE, F.-Ann.
Endocr:32(4), 621-2, 1971.
- 104.- MALAISSE, W.J., BRISSON, G.R. and BAIRD, L.E.-Am.J.Physiol:
224, 389-94, 1973.
- 105.- MARCO, J., HEDO, J.A. and VILLANUEVA, M.L.-J.Clin.Endocrinol.
Metab:46(1), 140-5, 1978.
- 106.- MARTIN, J.M., MOK, C.C., PENFOLD, J. et al.-J.Endocr.:58(3),
681-82, 1973.
- 107.- MC-INTYRE, N.-Ciba Found.Symp.:50, 153-60, 1978. Tomado
de:Excerpta Medica(Endocrinology)41, art.1724,
1979.
- 108.- MERIMEE, T.J. and PULKKINEN, A.J.-Endocrinol.Metab:45(2),
232-5, 1977.
- 109.- MILLER, L.J., MALAGELADA, J.R. and GO, V.L.W.-J.Clin.Endocr.
Meta.:47(5), 1009-14, 1978.

- 110.- MOLTZ, J.H., DOBBS, R.E., MC-CANN, S.M. and FAWCETT, C.P.-
Endocrinology: 101(1), 196-202, 1977.
- 111.- MURILLO, M.L., CAMPOS, M.S., MATAIX, F.J. y VARELA, G.-
Rev. Esp. de Fisiol: 34, 365-70, 1978.
- 112.- NOE, B.D., BAVER, G.E., STEFFES, M.W. et al.-Horm. Metabol.
Res: 7(4), 314-22, 1975.
- 113.- NOTKINS, A.L.- Invest. y Ciencia: 40, 16-28, 1980.
- 114.- OHTA, H. and OHARA, H.-Sapporo Med. J: 47(6), 628-43, 1978.
Tomado de Excerpta Medica (Endocrinology), 41, art.
3224, 1979.
- 115.- ORCI, L. and UNGER, R.H.-Lancet: 2(7947), 1243-4, 1975.
- 116.- ORCI, L., AMHERDT, M., MALAISSE-LAGAE, F. et al.-Science:
179(4068), 82-4, 1973.
- 117.- ORCI, L., MALAISSE-LAGAE, F., AMHERDT, M., RAVAZZOLA, M. et al.
J. Clin. Endocrinol. Metab: 41, 841-4, 1975.
- 118.- OSORIO, C.-XVIII Congreso Nacional de la Sociedad
Española de Ciencias Fisiológicas, 4ª Ponencia,
Valencia, 1979.
- 119.- PAJARES, J.M.-XIX Curso de Especialización en el Servicio,
Escuela del INP. Editado por Liade, Madrid, 1976,
pág, 139.
- 120.- PEDERSON, R.A. and BROWN, J.C.-Endocrinology: 103(2),
610-5, 1978.

- 121.- PEDERSON, R.A., SCHUBERT, H.E. and BROWN, J.C.-Diabetes:
24(12), 1050-6, 1975.
- 122.- PEDERSON, R.A., SCHUBERT, H.E. and BROWN, J.C.-Canad.J. Physiol.:53(2), 217-23, 1975. Tomado de Excerpta Medica (Endocrinology), 34, art. 2837, 1976.
- 123.- PEDRAZZOLI, S., DODI, G., MILITELLO, C., et al.-Eur.Surg.Res.:10(1), 33-9, 1978.
- 124.- PELLETIER, G.-Diabetes:26(8), 749-56, 1977.
- 125.- PENTO, J.T., KAGAN, A. and GLICK, S.M.-Hormone Metabol.Res:
6(3), 177-80, 1974.
- 126.- PERMUTT, M.A. and ROUTMAN, A.-Biochem.Biophys.Res.Commun:
78(3), 855-62, 1977.
- 127.- PETERSEN, H., SOLOMON, T. and GROSSMAN, M.I.-Am.J.Physiol:
234(3), E286-93, 1978.
- 128.- PETKOV, P. and DONEV, S.-Acta Diabet.Lat:10(3), 454-77,
1973.
- 129.- PETKOV, P., GALABOVA, R. and OGNEVA, V.-Med.Biol.Probl:1,
83-89, 1973. Tomado de: Excerpta Medica (Endocrinology), 34, art. 3045, 1976.
- 130.- POINTNER, H., FLEGEL, U. and WALDHAESL, W.-Wien.Klin.Wschr:
86(9), 244-46, 1974. Sacado de: Excerpta Medica (Physiology), 33, art. 528, 1975.

- 131.- POLAK, J.M. and BLOOM, S.R.-Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.:
53(1), 11-40, 1978.
- 132.- POZZA, G.-Acta Diabet. Lat.: 8(6), 1190-1200, 1971.
- 133.- PRIETO, J.C., GUERRERO, J.M. y GOBERNA, R.-XVIII Congreso
Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas,
4ª Ponencia, Valencia, 1979.
- 134.- PULIDO, O.M., BENCOSME, S.A., DE BOLD, M.L. and DE BOLD, A.J.
Diabetologia: 15(3), 197-204, 1978.
- 135.- RABINOVITCH, A. and DUPRE, J.-Endocrinology, 94(4),
1139-1144, 1974.
- 136.- RAWDON, B.B. and ANDREW, A.-Histochemistry: 59(3), 189-97,
1979.
- 137.- REGAL, H., FINK, M., LUGER, T. et al.-Wien. Klin. Wochenschr:
89(17), 580-6, 1977. Tomado de :Excerpta Medica
(Endocrinology), 39, art. 2261, 1978.
- 138.- REHFELD, J.F. and STADIL, F.-Eur. J. Clin. Invest: 5(3), 273-83,
1975.
- 139.- REYNELL, P.C. and SPRAY, G.H.-J. Physiol.: 131, 452-62, 1956.
Sacado de: World Review of Nutrition and Dietetics,
Vol 23, Ed: Bourne, G.H., Atlanta, Ga, 1975, pág. 54.
- 140.- SACCA, L., PEREZ, G., CARTENI, G. et al.-Horm. Metab. Res:
9(3), 209-12, 1977.
- 141.- SCHUSDZIARRA, V., IPP, E., HARRIS, V. et al.-Metab. Clin. Exp:
27(9), Suppl. 1, 1227-32, 1978.
- 142.- SELKURT, E.E.-Fisiología, 2ª Edición, Ed. El Ateneo, Buenos
Aires, 1976, pág. 675.

- 143.- SHERWIN, R.S., KRAMER, K.J., TOBIN, J.D. et al.-J.Clin. Invest:53(5), 1481-92, 1974.
- 144.- SHIMA, K., KUROKAWA, M., SAWAZAKI, N. et al.-Endocrinol.Jpn: 25(5), 461-5, 1978. Tomado de: Excerpta Medica(Endocrinology), 41, art.2816, 1979.
- 145.- SHOFRANKOVA, A., MOSHGOVITCH, F. and VARGA, Y.-Fiziol.Zh. Sechenov:63(1), 120-25, 1977. Tomado de :Excerpta Medica(Endocrinology)37, art.3240, 1977.
- 146.- SINH, M. and WEBSTER, P.D.-Gastroenterology:74(2I), 294-309, 1978.
- 147.- SIPAROV, I.N.-Vestn.Khir.Grekova, 103, 47-52, 1969. Tomado de: World Review of Nutrition and Dietetics, vol.23, Ed:Bourne, G.H., Atlanta, Ga, 1975, pág.99.
- 148.- SOLOMON, T.E., PETERSEN, H., ELASHOFF, J. and GROSSMAN, M.I.- Am.J.Physiol: 235(6), E714-19, 1978.
- 149.- SOMERS, G., DEVIS, G., VAN OBBERGHEN, E. and MALAISSE, W.J.- Pflug.Arch.Eur.J.Physiol:365(1), 21-8, 1976. Tomado de:Excerpta Endocrinology,37, art.1353, 1977.
- 150.- SRIKANT, C.B. and UNGER, R.H.-Endocrinology:99(6), 1655-8, 1976.
- 151.- SUNDLER, F., ALUMETS, J., HAKANSON, R. et al.-Histochemistry: 55(2), 173-6, 1978.

- 152.- TABORSKY, G. J., SMITH, P. H. and PORTE, D.-Am. J. Physiol:
5(2), E123-8, 1979.
- 153.- TAMARIT, J., TAMARIT RODRIGUEZ, J., GOBERNA, R. and LUCAS, M.-
Rev. Esp. Fisiol: 30(4), 299-302, 1974.
- 154.- TAMINATO, T., SEINO, Y., GOTO, Y. et al.-Diabetes: 26(5),
480-4, 1977.
- 155.- TAMURA, K., KAJIWARA, T., SUZUKI, T. and TOBE, T.-Diabetes:
27(12), 1156-66, 1978.
- 156.- TAYLOR, I. L., SOLOMON, T., WALSH, J. H. and GROSSMAN, M.-
Gastroenterology: 76(3), 524-8, 1979.
- 157.- TEPPERMAN, J.-Fisiología Metabólica y Endocrina (3ª Ed.),
Editorial Interamericana, México, 1975, pág. 172.
- 158.- UNGER, R. H. and EISENTRAUT, A. M.-Arch. Intern. Med. : 123,
261-6, 1969.
- 159.- UNGER, R. H. and ORCI, L.-Diabetes: 26: 241-44, 1977.
- 160.- UNGER, R. H., DOBBS, R. E. and ORCI, L.-Ann. Rev. Physiol:
40, 307-43, 1978.
- 161.- VAGNE, M., ARMENGOL, J. R., DESVIGNE, C. et al.-Digestion:
5(5), 284-9, 1972.
- 162.- VAN LAN, V., YAMAGUCHI, N., GARCIA, M. J., RAMEY, E. R., PENHOS,
J. C.-Endocrinology: 94, 671-5, 1974.
- 163.- VARANDANI, P. T.-Biochim. Biophys. Acta: 295(2), 630-6, 1973.

- 164.- VINIK, A.I., KALK, W.J., KELLER, P. et al.-Lancet:2(7822),
183-4, 1973.
- 165.- WADE, J.B., KACHADORIAN, W.A. and DI SCALA, V.A.-Am.J.Physiol
232(2), F77-83, 1977.
- 166.- WEIR, G., KNOWLTON, S., and MARTIN, D.-Endocrinology;95,
1744-46, 1974.
- 167.- WESTERMAN, P.-Upsala J.Med.Sci.:78(1), 22-32, 1973. Tomado
de: Excerpta Medica (Endocrinology)31, art.1404,
1974.
- 168.- WOODS, S.C. and PORTE, D.-Physiol.Rev:54(3), 596-619, 1974
- 169.- YOUNGS, G.-Gut:13(2), 154-161, 1972.