

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

03062

2e)

10

Instituto de Fisiología Celular

PAPEL DE LA INSULINA Y EL GLUCAGON EN EL EFECTO
HIPERGLUCEMIANTE DE LA ADENOSINA EN LA RATA

TESIS

que para obtener el grado de
MAESTRO EN INVESTIGACION BIOMEDICA BASICA

presenta:

PABLO JORGE SUAREZ MUNGUIA

México D.F.

1987

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

Introducción	1
-Del origen de la glucosa	2
-De la utilización de la glucosa	2
Los mecanismos regulatorios	3
a) Regulación hormonal	3
b) Mecanismos regulatorios no hormonales	6
c) Regulación nerviosa	7
-Factores disturbantes de la glucemia	7
Justificación	12
Metodología	13
Resultados e interpretación	14
Publicación (Ref. Anexa)	
Effect of adenosine on the serum levels of glucose, insulin and glucagon <u>in vivo</u> . (1987)	
Int. J. Biochem. 19(1); 82-88.	
Discusión	19
Conclusiones	26
Referencias	27

"Once written, statements (data, results, hypotheses, etc.) tend to take on an excessive air of certainty, not easily shaken by later questioning."

(Cohen, N.R. 1981)

INTRODUCCION

El término de homeostasis fué propuesto por Cannon para describir la reacción de un organismo frente a diversos estímulos que alteran la concentración de alguno de sus constituyentes desencadenando una serie de acontecimientos que tienden a restaurar esta concentración hasta nivel normal. Los mecanismos homeostáticos utilizan todas las posibilidades fisiológicas de los mecanismos de retroregulación.

La constancia relativa de la concentración de la glucosa normal en sangre (glucemia), a pesar de la existencia de diversos factores disturbantes, es un bello ejemplo de la regulación homeostática. Y es indispensable que así sea, ya que aunque la dependencia de los distintos tejidos por la glucosa es muy variable, existe un órgano vital que depende en forma crítica de la glucosa: el cerebro. Para el sistema nervioso central, la glucosa es la principal fuente de energía que atraviesa la

barrera hemato-encefálica.

La homeostasis de la glucosa implica el juego de un gran número de mecanismos regulatorios complejos.

A continuación revisaremos en forma breve los mecanismos más importantes en la homeostasis de la glucosa.

La concentración de glucosa sanguínea es el resultado de las velocidades relativas de la producción de glucosa, a partir de glucógeno, lactato, aminoácidos, glicerol y otras fuentes, la absorción de la glucosa a través del tracto intestinal, la utilización de la glucosa por las células y la pérdida de glucosa en orina.

- Del origen de la glucosa.- La glucosa sanguínea proviene de diversas fuentes: de la dieta, de la biosíntesis y exportación de órganos con capacidad gluconeogénica (hígado principalmente) y de la degradación del glucógeno hepático (glucogenólisis).

La importancia de cada fuente en el aporte de glucosa a la circulación dependerá del momento metabólico en que se encuentre el organismo. Así, en el posprandio, la glucosa sanguínea será principalmente aportada por la dieta, durante el ayuno leve o en las primeras horas del día antes de ingerir alimentos, la principal fuente de glucosa la constituye la degradación del glucógeno hepático, la gluconeogénesis tomará importancia en situaciones de ayuno prolongado.

- De la utilización de la glucosa.- La glucosa es utilizada por todas las células del organismo como fuente de energía, esto es, a partir de glucosa por vía glucolítica se obtiene ATP y equivalentes reductores que junto con los provenientes del ciclo

de los ácidos tricarbóxicos en la siguiente etapa de oxidación de la glucosa, rinden energía en la cadena de transporte de electrones. La glucólisis representa la vía más importante para algunas células por ejemplo: los eritrocitos, los miocitos del músculo esquelético y las células del sistema nervioso.

Por otra parte la glucosa puede almacenarse como fuente de energía al ser convertida en glucógeno por el hígado o en grasa por el tejido adiposo.

Otra forma de remoción de la glucosa del torrente sanguíneo lo constituye la eliminación renal. La glucosa se elimina en orina cuando se alcanzan niveles por encima de 170 mg./100ml.

- Los mecanismos regulatorios.- Los mecanismos regulatorios de la glucemia inciden principalmente sobre las vías que producen o metabolizan a la glucosa, inhibiendo o activando rutas metabólicas, cuidando el funcionamiento armónico y el equilibrio necesario para mantener la homeostasis. Tenemos así a los siguientes:

a). Hormonal

La regulación hormonal representa el mecanismo más importante de regulación de la homeostasis de la glucosa sanguínea. Existen hormonas hiperglucemiantes e hipoglucemiantes:

INSULINA.- La insulina es la hormona hipoglucemiante por excelencia, tras la administración de esta, se observa una disminución rápida de la concentración de glucosa sanguínea y un incremento en los productos derivados de la glucosa. La insulina aumenta la velocidad de transferencia de la glucosa desde el compartimiento extra al intracelular. En efecto, la Km para el

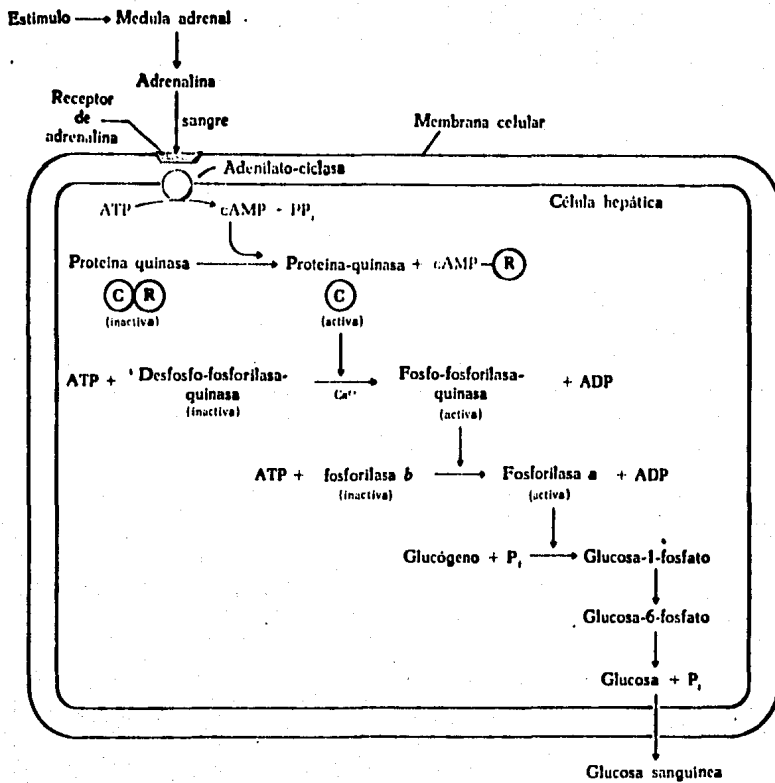


FIG. 1 CASCADA METABÓLICA.
 (Tomado del Lehninger 2ª edición)

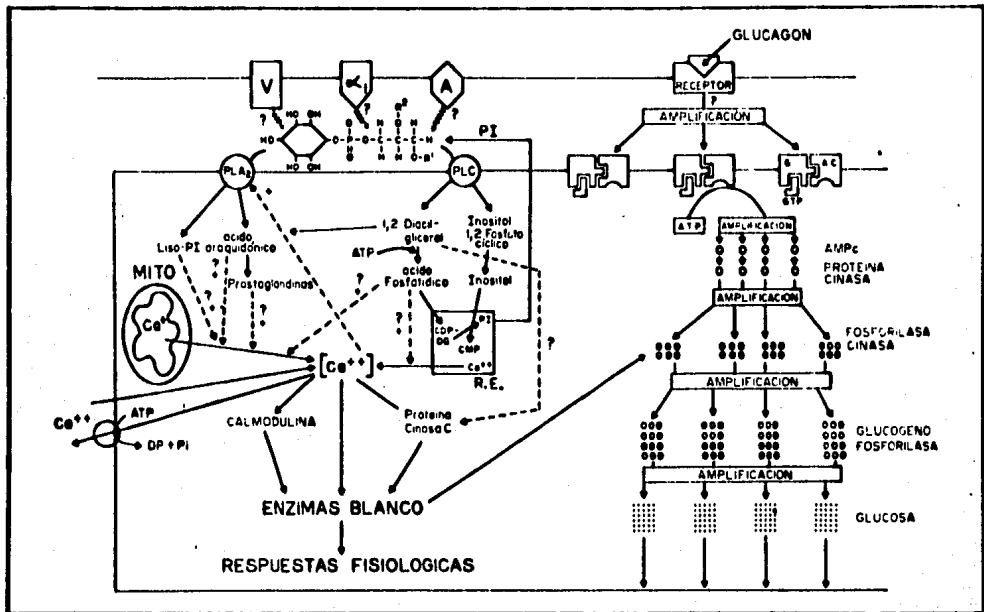


FIG. 2 CASCADA METABÓLICA.
 (Tomado de BEB Jun. de 1985)

transporte de glucosa decrece mientras la V_{max} incrementa. La síntesis de glucógeno, de los ácidos grasos en el hígado y en el tejido adiposo se intensifica y se observa un incremento en el cociente respiratorio en donde el CO_2 expirado proviene de la oxidación de la glucosa. La insulina tiene también un efecto inmediato sobre la glucógeno sintetasa, promoviendo la conversión de la forma inactiva a la activa. Por otra parte también inhibe la lipólisis. Como consecuencia, en los tejidos periféricos aumenta la conversión de glucosa sanguínea a glucógeno y lípidos.

La insulina promueve la síntesis de proteínas a partir de aminoácidos, aumenta la inducción de glucocinasa y fosfofructocinasa y suprime la formación de ciertas enzimas gluconeogénicas tales como la piruvato carboxilasa y la fructosa difosfatasa.

La insulina parece tener acciones generalizadas en la membrana plasmática cuando interacciona con sus receptores en cada una de sus células blanco, causando cambios que aumentan la permeabilidad no solo a la glucosa, sino también a aminoácidos, lípidos y K^+ , seguidos por un incremento en la biosíntesis de productos citoplásmicos y de reserva.

HORMONAS ADENOHIPOFISIARIAS.- La adenohipófisis secreta hormonas que son, al menos parcialmente, antagonistas de la acción de la insulina. La extirpación de la adenohipófisis en un animal pancreatetectomizado corrige en forma importante sus defectos metabólicos. El animal hipofisectomizado es extremadamente sensible a la administración de insulina y esta sensibilidad puede ser abolida a través de la inyección repetida de ciertas hormonas adenohipofisarias. La administración prolongada de

hormonas como somatotrofina y adrenocorticotrofina produce hiperglicemia continua y finalmente daña las células pancreáticas beta. La lesión que puede conducir a una diabetes permanente se atribuye a la hiperglicemia "per se" puesto que un deterioro similar se puede producir por la administración prolongada y excesiva de glucosa.

EPINEFRINA.- La epinefrina es una hormona hiperglicemiante que actúa activando la glucogenólisis y la gluconeogénesis, la elevación de la glucemia es rápida y algunas veces supera el umbral de eliminación renal. El efecto de la epinefrina se logra cuando la hormona interacciona con alguno de sus receptores (se conocen cuando menos dos alfa y dos beta) y se desencadenan mensajes que se amplifican en cascada y dan como resultado la activación o inhibición de rutas metabólicas. El ejemplo clásico lo podemos ver en la figura 1, en donde se ve la estimulación de la glucogenólisis por epinefrina con el concomitante aumento de la glucosa en sangre. Esta hormona es secretada en la médula suprarrenal y en las terminaciones nerviosas del sistema simpático.

GLUCAGON.- Al igual que la adrenalina es una hormona hiperglicemiante que actúa en sus propios receptores estimulando la glucogenólisis y la gluconeogénesis, solo que actúa principalmente a nivel hepático. El mecanismo de acción es semejante al de la epinefrina desencadenando una reacción en cascada sobre las células blanco (Fig. 2).

ESTEROIDES ADRENOCORTICALES.- Algunos esteroides de la corteza suprarrenal como el cortisol, provocan hiperglucemia pero su efecto es más bajo y más prolongado. Existen evidencias de que éstas hormonas actúan por medio de receptores intracelulares o nucleares que inducen a las enzimas claves de la gluconeogénesis.

HORMONAS TIROIDEAS.- Los animales hipertiroideos exhiben una diabetes suave con ausencia casi completa del glucógeno hepático.

Todas las hormonas funcionan en armonía y responden a mecanismos de retroalimentación de tal manera que sus concentraciones pueden ser reguladas a su vez por otras hormonas o compuestos estimuladores o inhibidores de su secreción.

La homeostasis de la glucosa dependerá del balance adecuado de todas las hormonas que la afecten.

b). Mecanismos regulatorios no hormonales.

Dentro de estos tenemos que considerar a los efectores alostéricos de las enzimas involucradas en las rutas metabólicas que aportan o remueven la glucosa de la sangre.

Como ejemplo tenemos a la glucógeno sintetasa dependiente de glucosa-6-fosfato que cambia de forma inactiva a activa por medio de la glucógeno sintetasa fosfatasa. Se ha descrito que esta última enzima se inhibe por ATP en músculo y en hígado, sin embargo, la inhibición de esta enzima por ATP es pequeña en presencia de bajos niveles de glucógeno (alrededor de 5%); en cambio la presencia de concentraciones mayores del polímero potencia el efecto inhibitorio del ATP (50% aprox.) por lo menos

en músculo y leucocitos. Esta inhibición es menos patente en presencia de glucosa-6-fosfato en el medio (1).

Otro ejemplo de regulación no hormonal es el de la propia glucosa que cuando se encuentra en concentraciones altas (30 - 40 μ M), promueve la desviación de glucosa hacia la síntesis de glucógeno y ácidos grasos (2). Por otra parte la misma concentración de glucosa es una señal que entienden las glándulas endócrinas como el páncreas que secreta hormonas reguladoras de su metabolismo.

c). Regulación nerviosa.

La inervación simpática y parasimpática son importantes en la regulación de la homeostasis de la glucosa porque secretan hormonas como epinefrina y acetilcolina que pueden actuar en las glándulas endócrinas como el páncreas en donde regulan la secreción de hormonas.

Factores disturbantes de la gluцемia.

Existe un sin número de factores que tienden a alterar la homeostasis de la glucosa. A continuación mencionaré los más importantes para este trabajo.

AYUNO

Se han realizado numerosos estudios en humanos que voluntariamente se han sometido a ayuno prolongado bajo condiciones controladas y lo que se ha encontrado es lo siguiente: En el ayuno inmediato (primeras 24 horas), la fuente

de glucosa más importante lo constituye el glucógeno hepático, pero este se agota hasta alcanzar niveles de hasta 10% o menos del nivel normal y permanece bajo mientras dure el periodo de ayuno, también baja el glucógeno del músculo pero no tan importantemente. La glucemia sin embargo permanece relativamente constante a nivel normal de 80 mg./100 ml. o 4.5 mM, por cuatro semanas o más durante un ayuno total. Cuando el glucógeno se ha agotado (10%), aumenta la utilización de triglicéridos de los depósitos y el tejido celular subcutáneo. Este aumento en la oxidación de los ácidos grasos se acompaña de hipercetonemia, principalmente a expensas de beta-hidroxibutirato.

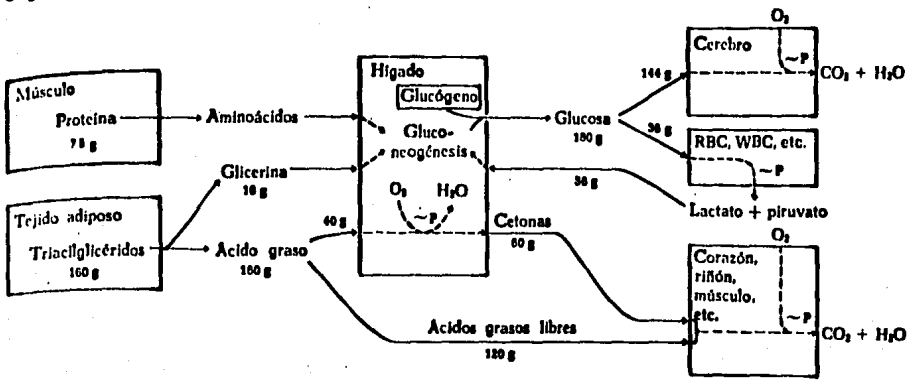
En pocos días aumenta la cantidad de nitrógeno excretado en orina, principalmente en forma de urea, producto final del catabolismo de aminoácidos indicando la degradación de proteínas. Resulta paradójico que exista degradación de proteínas cuando todavía existen suficientes depósitos de grasas. Sin embargo las proteínas sirven de fuente de glucosa para el cerebro. El cerebro utiliza el 20% o más de la energía que gasta el organismo en condiciones basales, pero normalmente solo utiliza glucosa como fuente energética y los requerimientos son de 140 g. de glucosa por día. Si los niveles de glucosa fallan apreciablemente, ocurren daños significativos en el sistema nervioso central. Otras células como los eritrocitos, utilizan glucosa solamente, sin embargo producen lactato para el ciclo de Cori, para convertirlo en glucosa nuevamente.

La glucosa puede formarse del glicerol de los triglicéridos, pero no de los ácidos grasos, así que la mayor fuente de glucosa en el individuo en ayuno son el glicerol y las proteínas

Hombre en ayuno (36 h)

Origen del combustible

Consumo de combustible



Hombre en ayuno, adaptado (5-6 semanas)

Origen del combustible

Consumo de combustible

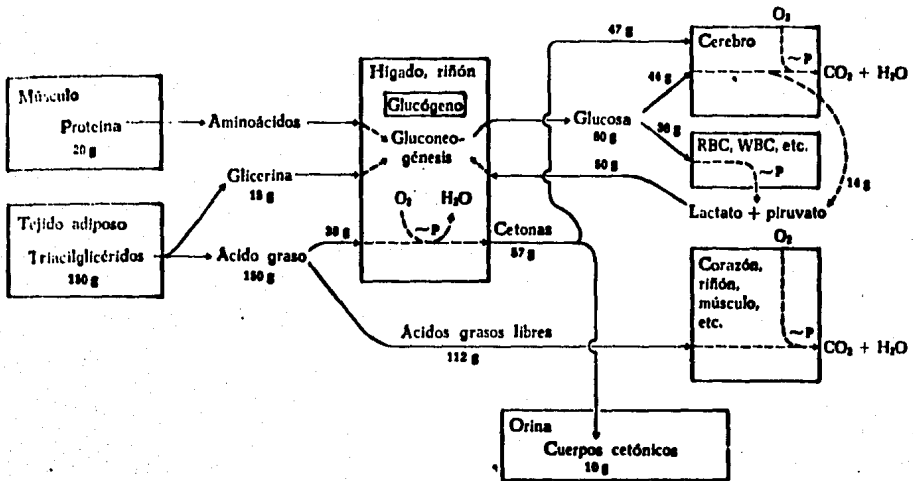


FIG. 3 EFECTOS METABOLICOS DEL AYUNO EN EL HOMBRE.
(Tomado del Lehninger 2a edición)

corporales. A partir de aminoácidos glucogénicos, por vía gluconeogénica hepática, se producen 57 g. de glucosa por 100 g. de proteína. Por las demandas tan importantes de glucosa por el cerebro se sacrifican proteínas que tienen normalmente funciones importantes. Alrededor de la 4a. semana de ayuno, sobreviene un reajuste metabólico que permite al cerebro utilizar a los cuerpos cetónicos como fuente de energía y entonces disminuye drásticamente el consumo de proteínas. A partir de aquí, la sobrevivencia del individuo dependerá de la cantidad de grasa que tenga en los depósitos. Cuando se agoten estos se echará mano nuevamente de las proteínas con daños irreversibles que en esta etapa llevan a la muerte.

Un resumen de estas alteraciones se puede apreciar en la figura 3.

En el terreno hormonal durante el ayuno existen niveles bajos de insulina y elevación en la concentración sérica de glucagón. También se elevan las hormonas esteroides y existe secreción intensa de epinefrina por el stress que implica la situación de ayuno.

CARGA DE GLUCOSA

Cuando se administra una carga de glucosa oral a un individuo se altera temporalmente la homeostasis de la glucosa. Ocurren varios eventos entre los que destaca un aumento en la glucólisis, en la glucogénesis y en la lipogénesis. Esto se puede explicar por la alta concentración de glucosa y porque se provoca aumento en la liberación de insulina con una disminución

en la concentración de glucagón.

Los sujetos diabéticos presentan una curva temporal de glucemia diferente a la del individuo sano, esto es; con niveles más elevados y por más tiempo del carbohidrato. Los niveles de insulina no se elevan con este estímulo y el glucagón tampoco responde a la glucosa.

PATOLOGIAS.

De las patologías más importantes tenemos a la diabetes mellitus. En esta enfermedad existe hiperglucemia con alteración en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. La etiopatogenia de la diabetes se ha atribuido tradicionalmente a una deficiencia en la cantidad de insulina secretada por las células beta del páncreas. Sin embargo, ahora se mencionan varios factores que intervienen en la producción de la enfermedad entre los que se puede mencionar al glucagón como participante importante ya que se ha demostrado una pérdida en la regulación de la secreción de esta hormona conjuntamente con la disminución de insulina o incluso como causante principal de la enfermedad cuando existen valores normales de la hormona hipoglucemiante.

Otro factor importante lo constituye la somatostatina; hormona que primero se descubrió en la hipófisis y después en las células del islote pancreático. Esta hormona parece ejercer poder local regulatorio en la secreción de hormonas pancreáticas.

El patrón metabólico de la diabetes es semejante al del individuo en ayuno, solo que con hiperglucemia.

Otra enfermedad la constituye la presencia de un insulinoma que cursa con hipoglucemia a consecuencia de las grandes

cantidades de insulina que secreta el tumor.

Por otra parte entre los factores disturbantes de la glucemia, se enumeran infinidad de fármacos que al administrarse aumentan o disminuyen, por diversos mecanismos, los niveles de glucosa circulante. Como ejemplo tenemos los compuestos que están dentro del grupo de las sulfonilureas cuya utilidad terapéutica como hipoglucemiantes orales en el tratamiento de la diabetes mellitus no tiene discusión. También existen sustancias diabetogénicas como la estreptozotocina y la aloxana, útiles para la obtención de modelos experimentales de diabetes.

Un grupo aparte lo constituyen sustancias como la adenosina, la cual posee efectos farmacológicos elevando la glucemia (3) y puede tener un papel fisiológico en la homeostasis de la glucosa.

La adenosina es un nucleósido formado por adenina y ribosa (fig. 1) que cuenta con una gran actividad farmacológica a diferentes niveles: en el sistema nervioso, cardiovascular, endócrino, inmunológico y en el metabolismo (interesantes revisiones han aparecido al respecto, (ver 4,5) y además se le ha asignado un papel fisiológico en la regulación de diversos procesos metabólicos. Incluso se le ha postulado como una hormona local (4).

Por estudios in vivo se ha demostrado que este nucleósido afecta tanto el metabolismo de lípidos como el de carbohidratos (36). Por ejemplo: la adenosina aumenta la incorporación de U-14C glucosa en la grasa del epidídimo, lípidos hepáticos y glucógeno, con una elevación de recambio del glucógeno.

En estos estudios, se sabe desde 1974 por experimentos de varios investigadores (3) que la adenosina produce una hiperglicemia moderada y transitoria en ratas sometidas a ayuno de 24 horas. Sin embargo a la fecha no se pueden enumerar con exactitud los factores que determinan la elevación de la glucosa sanguínea por el nucleósido.

En 1977 Ismail y otros (7) trataron de explicar esta hiperglucemia demostrando un efecto inhibitorio de la adenosina sobre la secreción de insulina estimulada por glucosa en islotes de Langerhans aislados de rata. Por otra parte, han aparecido reportes contradictorios que señalan aumento de la secreción de insulina por adenosina a concentraciones milimolares (8,9 y,10) y otros estudios no han demostrado ningún efecto(11).

JUSTIFICACION.

De todo lo anterior resulta claro que, como se mencionó antes, la homeostasis de la glucemia es un proceso sumamente complejo y ningún mecanismo de regulación puede ser afectado sin que repercuta en un ajuste de los demás mecanismos de regulación, para compensar la alteración inicial.

La adenosina ha sido estudiada ampliamente por Chagoya de Sánchez y su grupo en cuanto a sus acciones en el metabolismo de lípidos y carbohidratos(3,6). Los estudios realizados principalmente en sistemas in vivo, han mostrado que el nucleósido de adenina y ribosa tiene un espectro farmacológico amplio causando efectos metabólicos diversos.

La explicación del efecto hiperglicemiante de la adenosina única y exclusivamente por inhibición de la secreción de insulina

(7) en el contexto de homeostasis que hemos revisado y de los múltiples efectos que tiene la adenosina sobre el metabolismo de carbohidratos y lípidos resulta simplista y poco convincente a mi manera de ver.

Yo pienso que el efecto de la adenosina sobre la glucemia es resultado de la alteración de diversos factores regulatorios que provoca el nucleósido, que conlleva a una situación metabólica diferente en donde la hiperglucemia es una de sus manifestaciones.

El interés de éste trabajo radica en estudiar la participación de la insulina y del glucagón en el efecto hiperglucemiante de la adenosina. Estas dos hormonas tienen un papel muy importante en la regulación de la glucemia. Por otra parte resulta atractivo aclarar el efecto que tiene la adenosina sobre la secreción de insulina y glucagón en un modelo in vivo ya que se han encontrado datos contradictorios al menos con insulina que pueden ser debidos a que se han utilizado sistemas in vitro que pueden arrojar resultados distintos dependiendo de las condiciones experimentales de cada grupo de trabajo.

METODOLOGIA.

Para realizar el estudio se utilizaron el modelo de ratas sometidas a ayuno de 24 horas, y el modelo de ratas en ayuno de 24 horas, a las que se les administró una carga de glucosa oral.

En estos dos modelos se administró la adenosina en inyección intraperitoneal generalmente a dosis de 200 mg./kg. de peso salvo en la curva dosis respuesta en donde se señalan las dosis utilizadas.

En algunos experimentos se administró insulina a dosis de 6 UI/rata.

Se cuantificó glucosa, insulina y glucagón. Los detalles metodológicos se pueden consultar en el artículo anexo a esta tesis (12).

RESULTADOS E INTERPRETACION.

Como se puede observar en la fig. 4 de la tesis y 1-A de la referencia anexa, la administración intraperitoneal de adenosina a ratas alimentadas y sometidas a ayuno de 24 horas causa una hiperglucemia severa que se manifiesta significativamente desde los primeros 15 min. y perdura hasta los 60 min. con tendencia alta hasta los 120 min.

De este experimento se desprende que la adenosina produce una marcada hiperglucemia en ratas alimentadas y sometidas a ayuno de 24 horas, cabe señalar que las ratas sometidas a ayuno tan prolongado, tienen niveles de glucógeno hepático muy bajos (13,14) por lo que la única fuente de glucosa es por vía gluconeogénica por otra parte se ha demostrado que en los animales en ayuno tratados con adenosina se incrementa la síntesis de glucógeno hepático (6). Entonces la hiperglicemia observada, podría efectivamente ser causada por un aumento en la gluconeogénesis hepática o como propuso Ismail(7), por una disminución en la secreción de insulina que provocara un desbalance entre la producción y la utilización de la glucosa.

Para probar esta hipótesis medimos los niveles de insulina en las ratas sometidas a ayuno y lo que se encontró fue que la

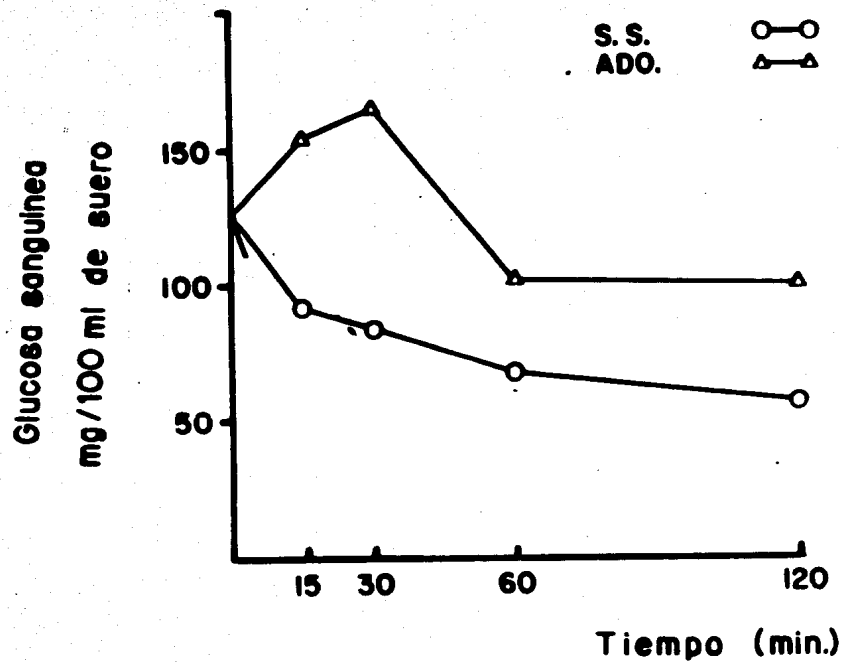


FIG. 4 Efecto de la adenosina en la glucemia de ratas alimentadas.

adenosina no provoca ningún cambio en la concentración sérica de esta hormona (Fig. 1-B de la ref. anexa).

Esto se podría interpretar como que la hiperglucemia producida por la adenosina en estos animales no es debida a la inhibición de la secreción de insulina, más aún, debemos considerar que la hiperglucemia "per se" es un estímulo para incrementar la secreción de insulina y tal incremento no se observa en presencia de adenosina. Por otra parte los reportes que existen acerca del efecto inhibitorio del nucleosido sobre la secreción de insulina in vitro se refieren a la secreción estimulada por glucosa.

Quisimos reproducir este efecto en nuestro modelo in vivo para lo cual utilizamos animales ayunados a los que se les administró una carga de glucosa oral a semejanza de una curva de tolerancia a la glucosa en el humano.

Cuando se administró adenosina a estos animales encontramos una hiperglucemia importante con una curva de tolerancia a la glucosa que recuerda a la de un animal diabético (Fig. 2-A ref. anexa).

Los niveles de insulina en los animales del grupo control aumenta significativamente durante los primeros 30 min. para caer a niveles normales a los 60 min. (Fig. 2-B ref. anexa). Este pico de secreción de insulina coincide con el pico de glucosa sanguínea (Fig. 2-A ref. anexa). Los animales que recibieron adenosina simultáneamente con la carga de glucosa no presentan esta elevación tan importante en los niveles séricos de insulina a pesar de tener una hiperglicemia mucho más marcada (Fig. 2-A y

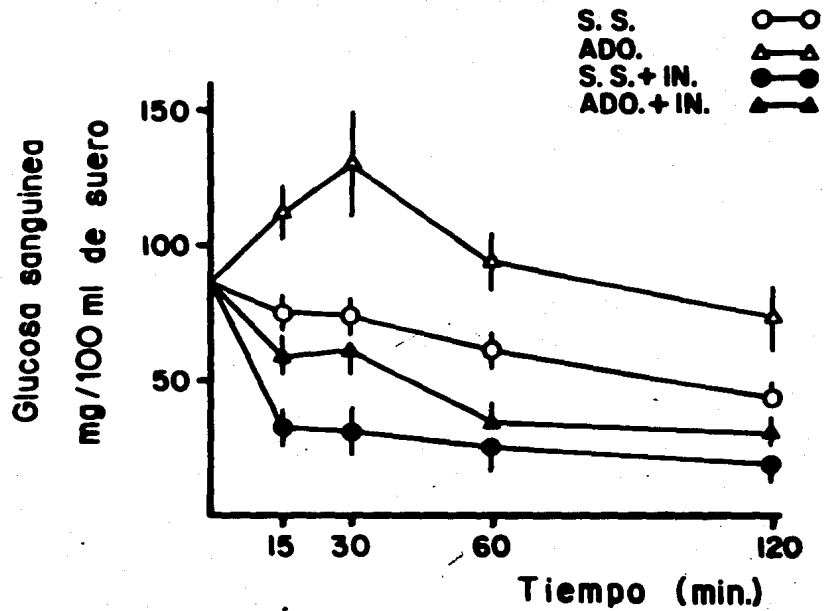


FIG. 5 EFECTO DE ADENOSINA SOBRE LA HIPOGLUCEMIA PROVOCADA POR INSULINA EN RATAS EN AYUNO.

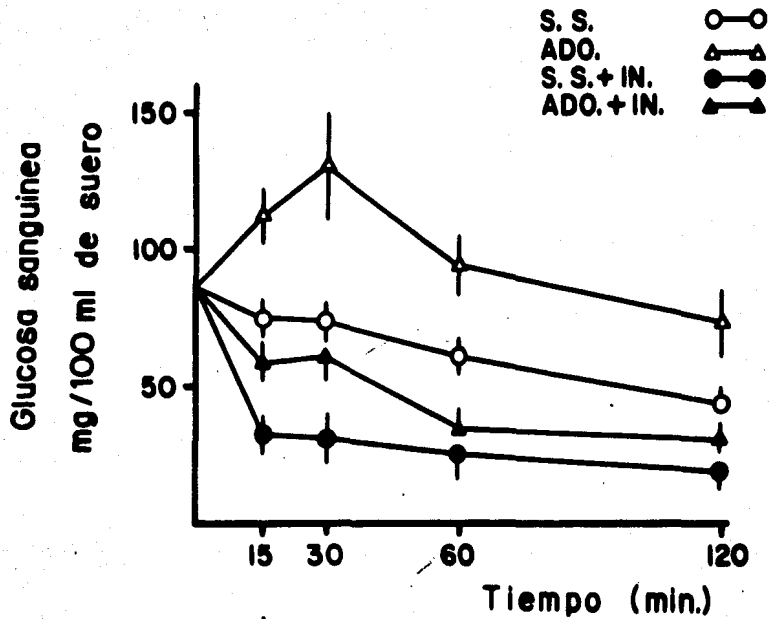


FIG. 5 EFECTO DE ADENOSINA SOBRE LA HIPOGLUCEMIA PROVOCADA POR INSULINA EN RATAS EN AYUNO.

2-B ref. anexa).

Estos resultados indican que la adenosina está inhibiendo la secreción de insulina estimulada por glucosa in vivo.

Un experimento que se antoja hacer después de los resultados anteriores es administrar insulina a los animales tratados con adenosina y tratar de revertir la hiperglicemia.

En la fig. 5 se ven los resultados obtenidos de este experimento en donde apreciamos que la insulina revierte el efecto hipergluceante de la adenosina, sin embargo, no se logra el efecto hipogluceante de insulina obtenido en el grupo control, al menos durante los primeros 30 min. de tratamiento. Esto se puede interpretar como que la adenosina está interfiriendo con la acción de la insulina al menos en este tiempo. Cabe señalar que la dosis de insulina administrada (6 UI, s.c./rata) es suficiente para mantener dentro de valores normales de glucemia a ratas diabéticas con glucemias hasta de 800 mg./100 ml. (15).

Con los resultados presentados hasta ahora, uno se podría quedar tranquilo y explicar la hiperglicemia causada por adenosina por una inhibición de la secreción de insulina, sin embargo queda la duda acerca de si el origen de esa glucosa está afectado por el nucleósido o no.

Es bien aceptado que en la hiperglicemia provocada por deficiencia de insulina en el paciente diabético participa cuando menos otra hormona que exacerba el problema, se trata del glucagón (16). Esta hormona hipergluceante por vía glucogenolítica y gluconeogénica, se ve aumentada durante condiciones en las que disminuye la insulina, guardando por lo

tanto una relación inversa con las concentraciones de insulina. Por otra parte existen reportes acerca de que la adenosina estimula la secreción de glucagón en modelos in vitro (17).

Por lo anterior decidimos medir esta hormona en nuestras condiciones y lo que encontramos fué que la sola administración de solución salina en animales en ayuno, tiende a bajar los niveles séricos de glucagón y que la adenosina revierte este efecto (Fig. 3-A ref. anexa).

Los animales que recibieron la carga de glucosa únicamente, presentaron niveles séricos de glucagón significativamente más bajos que el control que no recibió ningún tratamiento y la adenosina revierte totalmente este efecto en los dos tiempos estudiados (Fig. 3-B ref. anexa).

Hasta aquí podemos decir que la adenosina provoca disminución en los niveles de insulina séricos y aumenta los del glucagón al menos en animales que han recibido carga de glucosa oral. Es decir que la adenosina no altera la relación entre las dos hormonas y esto lo podemos corroborar en la figura 4 de la ref. anexa, en donde se grafica la concentración de insulina contra la del glucagón encontrada en cada animal de los grupos estudiados y vemos que la relación inversa entre las dos hormonas no se afecta bajo ningún tratamiento.

Con lo anterior parecería claro que la adenosina provoca hiperglicemia por alterar la secreción de éstas dos hormonas estudiadas, sin embargo, cuando estudiamos el comportamiento de la glucosa, insulina y glucagón séricos con respecto a la dosis de adenosina administrada (Fig. 6) encontramos lo siguiente: los

niveles de glucagón e insulina se afectan únicamente en los animales que recibieron carga de glucosa (Panel B) y esto es desde la primera dosis probada, dosis en la que la glucemia no se altera. Es claro que las dosis que afectan las hormonas están por abajo de las que afectan a la glucosa.

De este experimento se deduce que existe una disociación entre los dos efectos por lo que la hipótesis de que la hiperglucemia provocada por adenosina es causada por la alteración en la secreción de estas dos hormonas no se puede sustentar con el mismo entusiasmo.

Entonces surge la posibilidad de que otras hormonas estén participando en la hiperglucemia como por ejemplo los glucocorticoides los cuales por otra parte se ven afectados en su secreción con la administración de adenosina(18).

Por otra parte en nuestro grupo se han encontrado muchas evidencias de que la adenosina incrementa la gluconeogénesis hepática (dato no reportado), sin embargo, estos resultados chocan con el reporte de Krebs (19) en donde se demuestra que la adenosina no incrementa la gluconeogénesis en hepatocitos aislados de rata, pero estaría de acuerdo con lo encontrado en corteza renal en donde se demostró estimulación de la gluconeogénesis causado por la adenosina en ratas alimentadas (20).

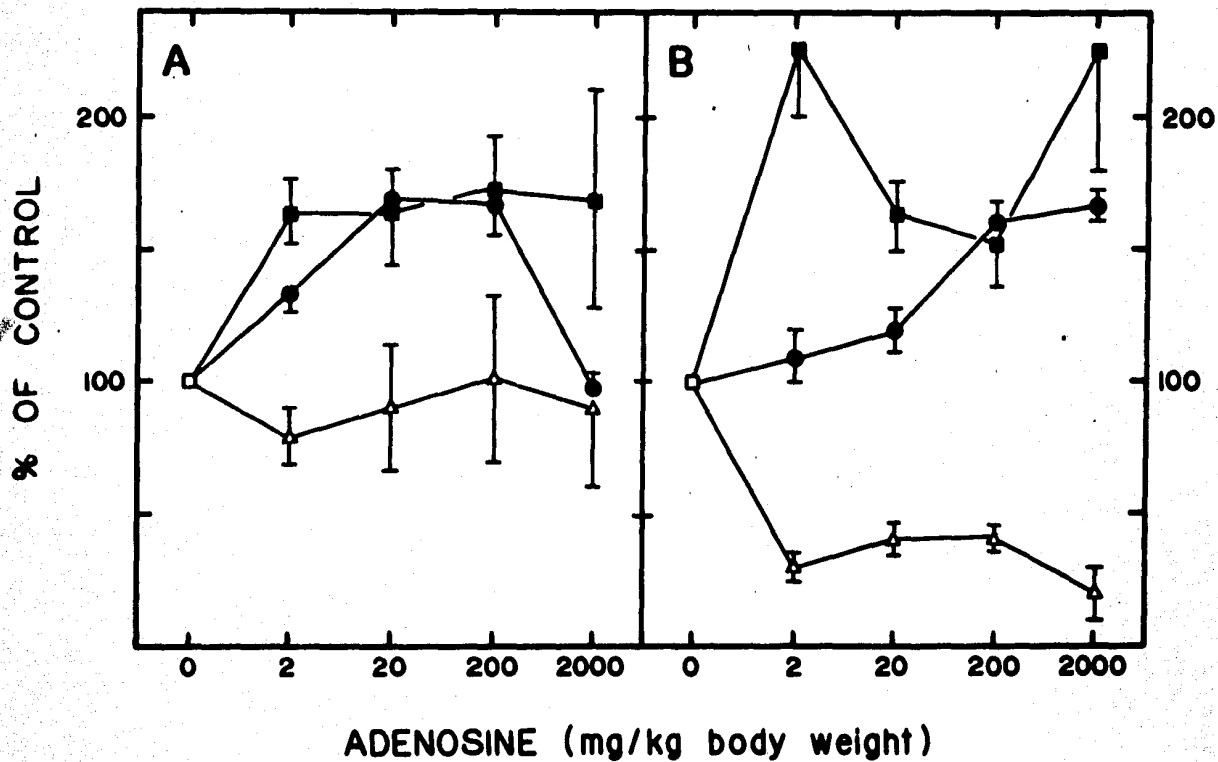


FIG. 6 Curva dosis respuesta para adenosina en los niveles séricos de glucosa ● , glucagon ■ , e insulina △ en ratas en ayuno A y con carga de glucosa B.

EFFECT OF ADENOSINE ON THE SERUM LEVELS OF GLUCOSE, INSULIN AND GLUCAGON *IN VIVO*

J. SUÁREZ,¹ V. E. VALLES² and V. CHAGOYA DE SÁNCHEZ^{2*}

¹Departamento de Bioenergética, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México, D.F. Mexico [Tel. (905)550-52-15] ²Clinica de Diabetes, Instituto Nacional de Nutrición "Salvador Zubiran" 14000 México, D.F. México

(Received 6 March 1986)

Abstract—1. The *in vivo* effect of adenosine on the serum levels of glucose, insulin and glucagon in rats fasted for twenty four hours or after an oral glucose load were studied.

2. Under fasting conditions adenosine produced an hyperglycaemia without change in the insulin or glucagon serum levels.

3. After a glucose load adenosine induced a marked hyperglycaemia concomitant to a decrease in insulin serum levels and an increase in glucagon serum levels.

4. Adenosine did not alter the relationship between insulin and glucagon.

5. *In vivo* adenosine administration altered the secretion of hormones by the islets of Langerhans (increased the release of glucagon and decreased the secretion of insulin) but this was only clearly observable under stimulated conditions.

6. Adenosine did not alter the regulatory mechanism(s) that modulate the relationship between insulin and glucagon.

INTRODUCTION

Evidence has accumulated suggesting that adenosine plays a role in regulating metabolic processes, directly or through hormone mediated action (Fox and Kelley, 1978; Chagoya de Sánchez *et al.*, 1983; Fain and Shepherd, 1977). Moreover, adenosine has been proposed as a local hormone (Arch and Newsholme, 1978) and as a modulator of some hormone secretions (Fox and Kelley, 1978). Studies *in vivo* showed that this nucleoside affects both carbohydrate and lipid metabolism in rats (Chagoya de Sánchez and Piña, 1972; Chagoya de Sánchez *et al.*, 1974): adenosine increases the incorporation of [U - ^{14}C]glucose into epididymal fat, hepatic lipids and glycogen, with an elevation of the glycogen turnover rate.

Previous results also showed that the nucleoside produces a moderate and transient hyperglycaemia in fasting rats (Chagoya de Sánchez *et al.*, 1974). Ismail *et al.* (1977) suggested that an inhibitory effect of adenosine secretion might explain those results, since they reported an inhibitory action of adenosine on glucose-stimulated insulin release by the isolated rat islets of Langerhans. In contrast to this report, it has been shown that millimolar concentrations of adenosine enhance the glucose-stimulated insulin release in golden hamster pancreas (Feldman and Jackson, 1974) and in rat islets (Taniguchi *et al.*, 1977). Other studies showed no effect of adenosine on glucose-stimulated insulin release nor on insulin biosynthesis in rat islets (Jain and Logothetopoulos, 1978). Recently, Campbell and Taylor (1982) reported that micromolar concentrations of adenosine inhibit

glucose-stimulated insulin release while millimolar concentrations of the nucleoside enhance glucose-stimulated insulin release from isolated rat islets of Langerhans; these authors also consider that the contradictory findings observed can be explained by the marked species differences in the response of the islets to purine nucleosides and by the different techniques used (Campbell and Taylor, 1977). On the other hand, adenosine has been shown to stimulate glucagon secretion from the isolated perfuse pancreas of the rat (Chapal *et al.*, 1984).

In this paper we have investigated the *in vivo* effect of adenosine on the serum levels of glucose, insulin and glucagon during fasting or in response to an oral glucose load. The aim of the study was to find the possible explanation of the hyperglycaemia induced by adenosine administration to fasted rats (Chagoya de Sánchez *et al.*, 1974) and to look for a possible physiological role of adenosine in the whole animal.

MATERIALS AND METHODS

Reagents

Adenosine was obtained from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.). The reagents for glucose determination were kindly donated by the Laboratorio Central de Reactivos of the Secretaría de Salubridad y Asistencia. Available commercial insulin-RIA kit, [^{125}I]glucagon, and glucagon antiserum were purchased from Amersham (Great Britain). All other chemicals were of analytic grade obtained from local commercial sources.

Animals

Male Wistar rats weighing 180–200 g were used after a 24 hr fast with free access to water. The animals received an

*Author to whom correspondence should be addressed.

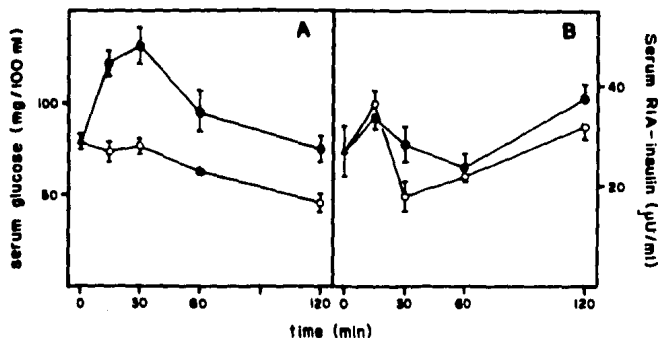


Fig. 1. Time-course of the adenosine effect on (A) serum glucose and (B) serum insulin levels. Rats fasted during 24 hr received either adenosine (●) or saline (○) and were sacrificed at the indicated times. Results are expressed as the mean \pm SE of at least six determinations.

intraperitoneal injection of either saline (0.9% NaCl of 10 ml/kg body weight) or adenosine (200 mg/kg body weight dissolved in saline and adjusted to pH 7.3). Other animals received an oral glucose load (2 g/kg body weight) simultaneously with adenosine or saline injections. At the indicated times after the treatment the rats were decapitated and a blood sample was obtained from the neck. Control animals sacrificed at zero time were not injected.

Determinations

Serum glucose was quantified by the method of Hultman (1959). Insulin and glucagon in the serum were determined by Radioimmuno-assay techniques (Hales and Randle, 1963; Unger *et al.*, 1970 respectively). The results are expressed as the mean \pm SE of 6-12 rats/group. Statistical significance of the differences between the experimental groups and the controls were determined by Students' *t*-test.

RESULTS

Adenosine administration to fasted rats increased serum glucose levels over a period of 120 min (Fig. 1),

as previously reported (Chagoya de Sánchez *et al.*, 1974). This increase was maximal (60%) after 30 min and was statistically significant as compared to the controls during the first 60 min [$P < 0.001$, Fig. 1(A)]. In the same samples RIA-insulin was determined (Fig. 1(B)) and no significant changes between both groups were observed. Thus, the hyperglycaemia of these animals cannot be explained solely by a lowering in serum insulin levels as suggested by other authors (Ismail *et al.*, 1977).

However, when the animals were treated with an oral glucose load, adenosine caused a very marked hyperglycaemia significantly different from the control group: $P < 0.005$ from 15 to 60 min after the treatment (Fig. 2(A)). Under these conditions serum RIA-insulin levels also increased markedly at 15 and 30 min in the control animals which received the oral glucose load alone. This increase was of much smaller magnitude when the animals received adenosine simultaneously to that the glucose load [$P < 0.001$ Fig. 2(B)]. Thus adenosine induced a clear inhibition of glucose-stimulated insulin release *in vivo*.

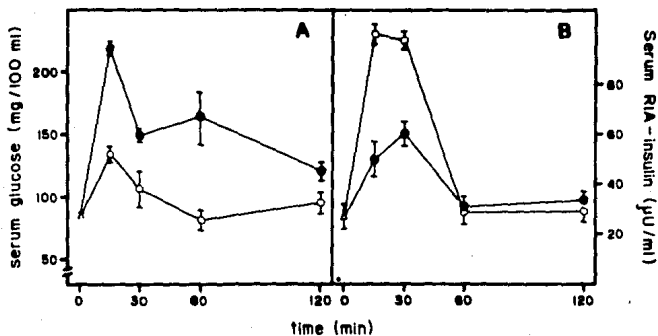


Fig. 2. Time-course of adenosine effect on (A) serum glucose and (B) serum insulin levels. Rats fasted during 24 hr received an oral glucose load followed immediately by either adenosine (●) or saline (○) administration and were sacrificed at the indicated times. Results are expressed as the mean \pm SE of at least six determinations.

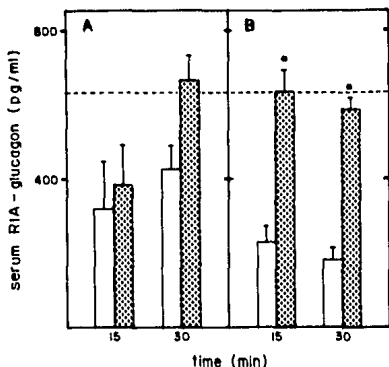


Fig. 3. Effect of adenosine on serum glucagon levels in (A), 24 hr fasted rats or (B) rats with an oral glucose load. Rats received either saline (open bars) or adenosine (stippled bars). The broken line represents the glucagon level observed in control rats without any treatment. Results are expressed as the mean \pm SE of at least six determinations (* = $P < 0.001$ vs saline group).

In another set of experiments with similar responses in serum glucose concentrations, the serum RIA-glucagon was measured and the results are shown in Fig. 3. The broken line represents the glucagon levels in untreated animals. In panel A we observe the changes induced by the administration of saline or adenosine to fasted animals. Although without statistical significance there was a tendency of serum glucagon to diminish in the saline group and the adenosine-treatment showed a tendency to prevent it. When the animals received a glucose load simultaneously to saline or adenosine-treatment, the effects were more clearly observed (panel B): the saline group showed a marked decrease of the serum glucagon levels 15 and 30 min after the treatment, while the administration of adenosine clearly prevented such decrease, keeping the glucagon levels within the normal range ($P < 0.001$ vs saline group).

The relationship between RIA measurements of insulin and glucagon serum levels was studied in all groups. The results are presented in Fig. 4, and show a perfectly clear inverse relationship between the serum levels of insulin and glucagon ($r = 0.99$).

DISCUSSION

The effects of adenosine on hormone secretion has been widely studied and an interesting proposal emerge from them as already suggested by Ismail *et al.* (1977): that adenosine could be a physiological regulator of insulin release. These authors also suggested that the inhibitory effect of adenosine secretion might account for the hyperglycaemia produced by adenosine administration to fasted rats (Ismail *et al.*, 1977). However, we found that in fasted rats, adenosine caused a moderate hyperglycaemia, but no significant change in serum insulin was observed [Fig. 1(A) and 1(B)], indicating that under this condition

adenosine might be altering other processes to induce this effect.

Other explanations for the hyperglycaemia induced by adenosine in fasted rats could be through an increased glucagon secretion (Chapal *et al.*, 1984). However, in these animals adenosine was unable to increase the glucagon levels (Fig. 3(A)). The data indicate that the action of adenosine to increase blood glucose under this condition may not be mediated by the nucleoside action on hormone secretion but could be explained by an increase glucose formation through hepatic gluconeogenesis (this is also supported by unpublished results).

When we tested the action of the nucleoside under the stimulus of an oral glucose load, adenosine inhibited the secretion of insulin induced by this stimulus [Fig. 2(B)] and a marked hyperglycaemia was evident. In this model a marked decrease in serum glucagon due to the glucose load was observed; this decrease was prevented by adenosine. This effect could be a consequence of the low serum insulin levels or a direct effect of adenosine on glucagon secretion. However, the linear relationship between insulin and glucagon levels under the different treatments indicate that adenosine does not alter the regulatory mechanism(s) that modulate such relationship.

Our results therefore indicate the following: (a) under fasting conditions the hyperglycaemia produced by adenosine cannot be attributed to changes in the secretion of either insulin or glucagon; participation of other factors is therefore suggested; (b) after a glucose load the marked hyperglycaemia induced by adenosine is at least partially due to the changes in the secretion of insulin and glucagon produced by the nucleoside; (c) *in vivo* adenosine administration alters the secretion of hormones by the islets of Langerhans (increases the release of glucagon and decreases the secretion of insulin) but this is only clearly observable under stimulated conditions.

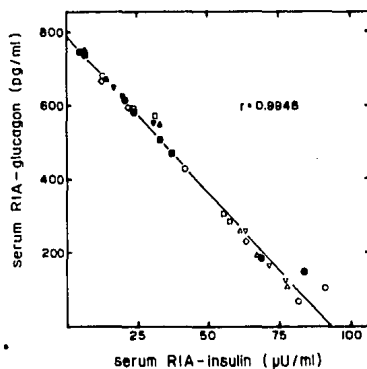


Fig. 4. Relationship between RIA insulin and glucagon levels. Points represent individual values of rats of the following groups: fasted (\odot), fasted + saline 15 (\circ) and 30 (\square) min, fasted + adenosine 15 (\bullet) and 30 (\blacksquare) min, oral glucose load + saline 15 (\triangle) and 30 (∇) min, oral glucose load + adenosine 15 (\blacktriangle) and 30 (\blacktriangledown) min.

Acknowledgements—P. J. Suárez is a Research Fellow at the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). This work was supported in part by grant from the CONACYT PCSABNA022497. The authors are indebted to Dr Adolfo García-Sáinz and Dr Antonio Peña for revision of this manuscript.

REFERENCES

- Arch J. R. S. and Newsholme E. A. (1978) The control of the metabolism and the hormonal role of adenosine. *Essays Biochem.* **14**, 82-123.
- Campbell I. L. and Taylor K. W. (1977) A species difference in phosphorylase activity and inosine-stimulated insulin secretion in isolated islets of Langerhans. *Biochem. J.* **168**, 51-593.
- Campbell I. L. and Taylor K. W. (1982) Effects of adenosine, 2-deoxyadenosine and N⁶-phenylisopropyladenosine on rat islet function and metabolism. *Biochem. J.* **204**, 689-696.
- Chagoya de Sánchez V. and Piña E. (1972) Adenosine, a glucogenic and lipogenic compound. *FEBS Lett.* **19**, 331-334.
- Chagoya de Sánchez V., Brunner A., Sánchez M. E., López C. and Piña E. (1974) Utilization of adenosine as a tool in studies on regulation of liver glycogen biosynthesis. *Archs biochem. Biophys.* **160**, 145-150.
- Chagoya de Sánchez V., Hernández-Muñoz R., Díaz-Muñoz M., Villalobos R., Glender W., Vidrio S., Suárez J. and Yañez L. (1983) Circadian variations of adenosine level in blood and liver and its possible physiological significance. *Life Sci.* **33**, 1057-1064.
- Chapel J., Loubatieres-Mariani M. M., Roye M. and Zerbib A. (1984) Effects of adenosine, adenosine triphosphate and structural analogues on glucagon secretion from the perfused pancreas of rat *in vitro*. *Br. J. Pharmacol.* **83**, 927-933.
- Fain J. N. and Shepherd E. R. (1977) Adenosine, cyclic AMP metabolism, and glycogenolysis in rat liver cells. *J. Biol. Chem.* **252**, 8066-8070.
- Feldman J. M. and Jackson T. B. (1974) Specificity of nucleotide induced insulin secretion. *Endocrinology* **94**, 388-394.
- Fox I. H. and Kelly W. N. (1978) The role of adenosine and 2-deoxyadenosine in mammalian cells. *A. Rev. Biochem.* **47**, 665-686.
- Hales C. N. and Randle P. J. (1963) Immunoassay of insulin with insulin antibody precipitate. *Biochem. J.* **88**, 137-146.
- Ismail N. A., El Denshary E. S. M. and Montague W. (1977) Adenosine and the regulation of insulin secretion by isolated rat islets of Langerhans. *Biochem. J.* **164**, 409-413.
- Jain K. and Logothetopoulos J. (1978) Metabolic signals produced by purine ribonucleosides stimulate proinsulin biosynthesis and insulin secretion. *Biochem. J.* **170**, 461-467.
- Taniguchi H., Hasegawa M., Kobayashi T., Watanabe Y., Seki M., Murakami K. and Baba S. (1977) Restoration by adenosine and theophylline of glucose-induced insulin responsiveness in new-born rats. *Horm. Metab. Res.* **9**, 257-260.
- Unger R. H., Aguilar-Parada E., Muller W. and Eisentraut A. M. (1970) Studies of pancreatic alpha cell function in normal and diabetic subjects. *J. clin. Invest.* **49**, 837-848.

DISCUSION

En base a los resultados anteriores podemos hacer algunas consideraciones sobre los siguientes puntos:

MECANISMO DE ACCION DE LA ADENOSINA SOBRE LA SECRECION HORMONAL

a) Inhibición de la secrecion de insulina.-

No se conoce bien el mecanismo de secreción de insulina. Al respecto se han postulado dos hipótesis: a) Hipótesis del sustrato, que propone que la glucosa es transportada al interior de la célula y a partir del metabolismo de esta se desencadenan eventos que culminan con la secreción de insulina. y b) Hipótesis del sitio regulador que dice que la glucosa se une a un receptor en la membrana plasmática de la célula beta generando un mensaje que estimula la secreción y la biosíntesis de insulina.

Existe apoyo para las dos hipótesis. La primera nació de los estudios tempranos de Coore y Randle (21) y Grodski y otros (22) quienes usaron pancreas de conejo y pancreas de rata perfundido en los que la secreción de insulina fué efectivamente estimulada por glucosa y manosa, carbohidratos que son bien metabolizados por tejidos de mamíferos, mientras 2-deoxiglucosa, 3-O-metil glucosa y galactosa no tuvieron efecto. Por otra parte se observó que la manoheptulosa es un potente inhibidor de la secreción de insulina estimulada por glucosa o manosa, y estudios con rebanadas de hígado demostraron que la manoheptulosa bloquea el metabolismo de la glucosa a nivel de la fosforilación.

De aquí se postuló que el metabolismo del azucar media en alguna forma la secreción de insulina estimulada por glucosa; entonces, variaciones en la glucaemia podrían ser interpretadas

por las células beta en señales que alteraran el metabolismo de la glucosa y la secreción de insulina.. El sensor de la célula beta sería entonces la enzima que cataliza la etapa limitante para la entrada de glucosa al metabolismo. Esta hipótesis fue propuesta por Randle y otros en 1968 (23).

La segunda hipótesis aparece con el advenimiento de técnicas para la separación de islotes de Langerhans viables (24, 25 y 26) en donde se encontraron otros factores que afectan la secreción de insulina distintos a carbohidratos por lo que la hipótesis del metabolismo del sustrato no explicaba totalmente el fenómeno de secreción por lo que se pensó en la presencia de segundos mensajeros.

Ultimamente se ha dado especial interés al papel que juega el Ca^{2+} y otros iones en el proceso de secreción de insulina.

En este sentido el Ca^{2+} parece tener un papel de gatillo de la secreción de insulina (27) o sea que una acumulación de Ca^{2+} citoplásmico dispararía el proceso de secreción de insulina.

El Ca^{2+} puede actuar como segundo mensajero durante el reconocimiento de agentes insulíntrópicos.

El K^{+} es otro ion que puede participar en la secreción de insulina ya que se ha observado que la glucosa disminuye la conductancia al potasio provocando una hiperpolarización por aumento de este ion (28).

Por otra parte es bien conocido que el AMPc aumenta la secreción de insulina cuando aumenta sus niveles por la acción de varios secretagogos (29) y aparentemente el AMPc causa una redistribución de calcio intracelular redundando en un aumento del Ca^{2+} citoplásmico (30)

Con este panorama podemos revisar el efecto de algunos nucleósidos de purina y ribosa en la secreción de insulina.

En islotes de ratón, la secreción de insulina es estimulada por inosina, guanósina y adenosina, siendo su máxima respuesta secretora muy cercana a la lograda por glucosa (31). Las bases púricas libres no tienen efecto en la secreción de insulina (31) tampoco la hipoxantina o la ribosa libre (32). Midiendo la aparición de CO₂ marcado a partir de nucleósidos se observa que la inosina y la guanósina se metabolizan bien en los islotes de ratón. Para los islotes de rata se han publicado reportes conflictivos: se ha reportado que la inosina, guanósina o adenosina no tienen efecto en la secreción de insulina (31), sin embargo, otro reporte mostró una estimulación de la secreción de la hormona por inosina (33). Por otra parte se ha encontrado un paralelismo cuando se mide el metabolismo y la actividad secretora de estos compuestos (31).

La respuesta secretora máxima se ha encontrado a una concentración de 2.5-5.0 mM de nucleósidos de purina (31). También se ha observado que concentraciones micromolares de adenosina o guanósina inhiben marcadamente la respuesta secretora a glucosa y a otros secretagogos en islotes de rata (7). Se sugiere que estos efectos son por la acción directa de la adenosina o guanósina en los sistemas de AMPc y GMPc.

El efecto de inosina estimulando la secreción de insulina no se inhibe por manoheptulosa lo que sugiere que su manera de actuar no es por su metabolismo (36).

En nuestros experimentos con el modelo del animal íntegro se

encontró que la adenosina inhibe la secreción de insulina estimulada por glucosa y la explicación de este efecto podría ser por la inhibición de la adenilato ciclasa con la consecuente caída o inhibición del aumento del AMPc. Esta suposición estaría de acuerdo con lo propuesto por Campbell y Taylor (34). El efecto de la adenosina encuadra más en la hipótesis del sitio regulador ya que la 2-deoxiadenosina y la N-6-propiladenosina causan inhibición en la secreción de la hormona y estos compuestos no son metabolizables.

Con respecto a las variaciones en la respuesta secretoria de insulina dependiendo de la dosis utilizada (inhibición o estimulación ver ref. 7 y 8), nosotros no encontramos estímulo a pesar de que probamos dosis muy altas.

Otra forma de actuar de la adenosina sería interfiriendo con los movimientos de iones; específicamente con Ca^{2+} y K.

La adenosina inhibe el aumento en la conductancia al Ca^{2+} causada por isoproterenol en miocitos cardiacos (35), al parecer evita la fosforilación del canal de Ca^{2+} . Si generalizamos este efecto de la adenosina, podríamos pensar que cuando viene el estímulo, por ejemplo glucosa, en presencia de adenosina, no se puede acumular calcio en el citoplasma con lo que se bloquearían los mecanismos secretorios.

Para que se lleve a cabo la secreción de insulina debe haber una hiperpolarización de la célula beta a expensas de K^{+} (36), la adenosina aumenta la conductancia al potasio con lo que promueve su salida. Este sería otro efecto sobre el movimiento de iones que contribuiría a inhibir la secreción de la hormona.

b) Estimulación de la secreción de glucagon.-

El mecanismo de secreción de glucagon no se conoce adecuadamente, esto es debido a las dificultades técnicas para obtener células alfa, ya que el 90% del islote lo constituyen células beta y el resto las otras especies celulares entre ellas las de tipo alfa que secretan glucagon. Sin embargo, se sabe que la secreción de esta hormona puede estar regulada por iones, hormonas, factores locales (insulina, somatostatina, monoaminas, prostaglandinas, etc.), innervación y por la concentración de varios sustratos.

La glucosa tiene gran influencia sobre la secreción de glucagon en forma inversa a la insulina; es decir que un aumento importante de los niveles séricos de glucosa aumentan la secreción de insulina pero bajan los de glucagon, esto ha sido demostrado por varios autores y esta relación inversa se ha corroborado con nuestros experimentos. El mecanismo de acción de la glucosa sobre la secreción de glucagon se propone que es el mismo que para la insulina, esto es; se necesita que la glucosa sea metabolizada para que se inhiba la secreción de glucagon, sin embargo, también se requiere de la interacción de la glucosa con su receptor.

Por otra parte algunos aminoácidos estimulan la secreción de glucagon (37) y los ácidos grasos y cuerpos cetónicos la inhiben (38).

El papel del Ca^{2+} no está bien claro, pero aunque existen datos contradictorios, la mayoría de los reportes coinciden con que la captación de calcio por la célula alfa es un

requerimiento esencial para la secreción de glucagon y que la disponibilidad de Ca^{2+} puede jugar un papel similar en la células alfa y beta del islote pancreático.

De entre los factores locales de regulación de la secreción de glucagon destaca la participación de la insulina que se ha demostrado inhibe la secreción de glucagon (39). La somatostatina es otro de los factores locales que se ha propuesto como regulador de la secreción de las dos hormonas (39).

La adenosina pudiera tener un efecto directo sobre la secreción de glucagon interactuando con el receptor de glucosa, sin embargo, se puede pensar que la adenosina al estar inhibiendo la secreción de insulina y por consiguiente bajando su concentración, el glucagon se viera libre del freno que representa la insulina y aumentara su liberación. Por otra parte no podemos descartar una acción estimuladora de la adenosina sobre la secreción de somatostatina que podría explicar el efecto del nucleósido sobre la secreción de las dos hormonas.

La adenosina podría actuar modificando las corrientes de iones, solo que en este punto no está claro el papel que juegan estos sobre la secreción del glucagon.

PAPEL FISIOLÓGICO DE LA ADENOSINA

A la adenosina se le ha asignado un papel fisiológico como modulador hormonal en diversos sistemas, por ejemplo: se le ha propuesto como una hormona local en el corazón, en el sistema nervioso se propone como neuromodulador (4), y en el tejido adiposo como regulador local de su metabolismo (40,41). Nosotros demostramos variaciones luz-obscuridad de la adenosina en

diferentes tejidos de la rata (42), lo que sugiere que este compuesto puede tener un importante significado fisiológico en muchos procesos biológicos.

Por lo anterior pienso que la adenosina pudiera tener un papel regulador de la actividad endócrina del islote pancreático a nivel local. Una evidencia que apoya indirectamente esta idea, es el hecho de que durante el ayuno existen niveles aumentados de la adenosina en hígado (datos no reportados), en el islote pancreático no se han podido cuantificar los niveles del nucleósido por problemas técnicos, sin embargo, haciendo la extrapolación de los datos en hígado, el patrón hormonal encontrado durante el ayuno corresponde al patrón observado durante la administración de adenosina.

CONCLUSIONES.

De este trabajo se puede concluir lo siguiente:

a). La adenosina provoca hiperglucemia marcada durante el ayuno y la alimentación.

b). La adenosina inhibe la secreción de insulina y estimula la de glucagón in vivo. Este efecto se ve más claramente cuando existe estímulo.

c). La hiperglicemia provocada por adenosina no puede ser explicada únicamente por la alteración de estas dos hormonas. La participación de otras hormonas puede estar involucrada.

d). No se descarta un efecto gluconeogénico directo de la adenosina como contribuyente de la hiperglucemia.

e). La adenosina puede estar actuando fisiológicamente modulando la homeostasis de la glucosa.

f). Será conveniente seguir estudiando la participación de otras hormonas en la hiperglucemia provocada por adenosina y tratar de probar o descartar el efecto gluconeogénico directo del nucleósido.

REFERENCIAS

- 1.- Wang, P y Bantle, G. (1974). The combined effect of glycogen and ATP on the D to I conversion of glycogen sintetase. *Bochem. Biophys. Res. Comm.* 57(1):148-153.
- 2.- Katz, J., Golden S. y Wals, P.A. (1979). Glycogen synthesis by rat hepatocytes. *Biochem. J.* 180:389-402.
- 3.- Chagoya de Sánchez V., Brunner A., Sánchez M.E., López C. and Piña E. (1974). Utilization of adenosine as a tool in studies on regulation of liver glycogen biosynthesis. *Archs. Biochem. Biophys.* 160:145-150.
- 4.- Arch J.R. and Newsholme E.A.. (1978). The control of the metabolism and the hormonal role of adenosine. *Essays. Biochem.* 14:82-123.
- 5.- Fox I.H. and Kelley W.N. (1978). The role of adenosine and 2-deoxiadenosine in mamalian cells. *A Rev. Biochem.* 47:665-686.
- 6.- Chagoya de Sánchez V. and Piña E. (1972). Adenosine a glucogenic and lipogenic compound. *FEBS Lett.* 19:331-334.
- 7.- Ismail N.A., El Denshary E.S., and Montague W. (1977) Adenosine and the regulation of insulin secretion by isolated rat islets of Langerhans. *Biochem. J.* 164:409-413.
- 8.- Feldman J.M. and Jackson T.B. (1974) Specificity of nucleotide induced insulin secretion. *Endocrinology* 94:388-394.
- 9.- Taniguchi H., Hasegawa N., Kobayashi T., Watanabe Y., Seki M., Murakami K., and Baba S. (1977) Restoration by adenosine and theophylline of glucose-induced insulin responsiveness in

- new-born rats. *Horm. Metab. Res.* 9:257-260.
- 10.- Andersson A. (1978) *Biochem J.* 176:619-621.
 - 11.- Jain K. and Logothetopoulos J. (1978) Metabolic signals produced by purine ribonucleosides stimulate proinsulin biosynthesis and insulin secretion. *Biochem. J.* 170:461-467.
 - 12.- Suárez J., Valles V.E. and Chagoya de Sánchez V. (1987) Effect of adenosine on the serum levels of glucose, insulin and glucagon in vivo. *Int. J. Biochem.* 19(1):85-88.
 - 13.- Remesar X., and Almeny M. (1980) Changes induced in Liver and muscle glycogen enzymes by 24-hours fasting in the rat. *Horm. Metab. Res.* 12:315-323.
 - 14.- Goldstein D.E., and Curnow, R.T. (1978) Effect of starvation on hepatic glycogen metabolism and glucose homeostasis. *Metabolism.* 27:315-323.
 - 15.- Steiner D.F. (1961) Severe Ketoacidosis in the alloxan diabetic rats. *Endocrinol.* 68:809
 - 16.- Raskin P. (1981) The islets of the Langerhans. S.J. Cooperstein and D. Watkins eds. Academic Press Inc. New York.
 - 17.- Chapel J., Loubatieres-Mariani M., Roye M. and Zerbib A. (1984) Effects of adenosine, adenosine triphosphate and structural analogues on glucagon secretion from the perfused pancreas of rat in vitro. *Br. J. Pharmac.* 83:927-933.
 - 18.- Wolff J. and Cook G.H. (1977) *J. Biol. Chem.* 252:687-693
 - 19.- Lund P., Cornell N.W. and Krebs A. (1975) *Biochem. J.* 152:293.
 - 20.- Rodin A.D., Rodin A.R. and Sagberson D.E. (1980) Stimulation

- of gluconeogenesis by adenosine in renal cortical tubule fragments from fed rats. *Biochem. Pharmacol.* 29:828-829.
- 21.- Core H.G. and Randle P.J. (1964) *Biochem. J.* 93:66.
 - 22.- Grodsky G.M., Batts, A.A., Bemett L.L., Vcella C., Mc Williams N.B., and Smith D.F. (1963) *Am. J. Physiol.* 205:828-829.
 - 23.- Randle P.J., Ashcroft S.J.H., and Gill J.R. (1968)in "Carbohydrate metabolism and its disorders" (F. Dickens, P.S., Randle and W.J. Whelan, eds.) 1:427-447 Academic press New York.
 - 24.- Hellerstrom C. (1964) *Acta Endocrinol.* 81:122.
 - 25.- Moskaleskis. (1965) *Gen. Comp. Endocrinol.* 5:342
 - 26.- Keen H., Sells R., and Jarrett R.J. (1965) *Diabetologia* 1:28.
 - 27.- Malaisse W.J., Herchuelts A., Devis G., Somers A., Boschero A.C., Hutlon J.C., Kawazu S., Sener A., Atwater I., Duncan G., Ribalet B., and Rojas E. (1978) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 307:562-582.
 - 28.- Sehlin J., and Tajjedal I.B. (1974) *J. Physiol. (London)* 242:505-515.
 - 29.- Malaisse W.J., Malaisse-Lagae F., and Mayhew D.A. (1967) *J. Clin. Invest.* 46:1724-1734.
 - 30.- Sugden M.C., and Ascroft S.J., (1978) *Diabetologia* 15:173-180.
 - 31.- Jain K. and Logothetopoulos J. (1978) *Biochem J.* 170:461.
 - 32.- Capito K., and Hedeskov C.J. (1976) *Biochem J.* 158:335.
 - 33.- Campbell I.L., and Taylor K.W. (1977) *Biochem J.* 168:59.
 - 34.- Campbell I.L., and Taylor K.W. (1982) *Effects of adenosine,*

- 2-deoxyadenosine and N6-phenylisopropyladenosine on rat islet function and metabolism....
- 35.- Isenberg G. and Belardinelli L. (1984) Ionic basis for the antagonism between adenosine and isoproterenol on isolated mammalian ventricular myocytes. *Circ. Res.* 55:309-325.
- 36.- Atwater I., and Meisner H.P. (1975) *J. Physiol.* (London) 278:117-139.
- 37.- Müller W., Aoki T., and Eahill G., (1975) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 40:418-425.
- 38.- Lefebvre P., and Luyoky A., (1978) *Endocrinology* 103:1579-1582.
- 39.- Barnes A., Blom S., Alberti K., Smythe P., Alford F., and Chisholm D. (1977) *N. Engl. J. Med.* 296:1250-1256.
- 40.- Dole, V.P. (1961) *J. Biol. Chem.* 163:3125-3130.
- 41.- Fain J.N. (1973) *Pharmacol. Rev.* 25:68:118.
- 42.- Chagoya de Sánchez V., Hernandez-Muñoz R., Díaz-Muñoz M., Villalobos R., Glender W., Vidrio S., Suárez J., and Yañez L. (1983) Circadian variations of adenosine level in blood and liver and its possible physiological significance. *Life Sciences* 33:1057-1064.