

Naturalmente, con frecuencia el epiléptico plantea el problema del *matrimonio*, de la *procreación*, de su *insociabilidad* e *internamiento*. Soy *contrario a la esterilización*. En cambio, se debe aconsejar la *abstención en lo que respecta al matrimonio*, y si algún día se establece la obligatoriedad del certificado de sanidad prematrimonial, ello planteará cues-

tiones en que habrá que valorar la hereditariadad, siendo conveniente la prohibición según el examen genealógico, constitución, antecedentes, examen del enfermo. La reclusión podrá ser necesaria frecuentemente por insociabilidad, peligrosidad, tendencia al suicidio, etc., según puede deducirse de lo anteriormente expuesto.

## ORIGINALES

### ESTUDIOS SOBRE EL METABOLISMO INTERMEDIARIO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

#### IV Comunicación

*Acción de la insulina sobre la citremia y piruvemia en los perros normales y diabéticos*

J. C. DE OYA y F. GRANDE COVIÁN

Instituto de Investigaciones Médicas. Sección de Fisiología.  
Madrid. Director: PROF. C. JIMÉNEZ DÍAZ

#### INTRODUCCIÓN

Según las ideas de KREBS, las etapas finales del catabolismo de los hidratos de carbono se verifican por intermedio del ciclo del ácido cítrico, es decir, que el pirúvico resultante de la degradación de los glúcidos combinado con el oxalacético, resultante a su vez de la unión del pirúvico con el  $\text{CO}_2$ , va a transformarse en ácido cítrico, el cual se transforma de nuevo en oxalacético después de pasar por las fases de ácido succínico, fumárico y málico. Aunque la teoría de KREBS se apoya principalmente en observaciones realizadas en papillas y cortes de tejidos y su validez no sea admitida de manera general, es evidente que constituye en la actualidad uno de los más importantes progresos realizados en el conocimiento del metabolismo intermediario de los hidratos de carbono.

En comunicaciones anteriores hemos dado a conocer nuestras observaciones acerca del comportamiento de los ácidos cítrico y pirúvico en diversas condiciones experimentales y en la presente nos proponemos describir las alteraciones experimentales de la citremia y piruvemia en los animales normales y pancreatectomizados, bajo la acción de la insulina; así como el efecto de ésta, sobre la utilización de pirúvico y la formación de cítrico en ambas clases de animales.

La finalidad de los experimentos contenidos en este trabajo, es la de aportar nuevos datos acerca del papel de los ácidos pirúvico y cítrico, como intermediarios en el proceso de utilización de los hidratos de carbono en el organismo animal. El animal pancreatectomizado, con su alteración del metabolismo

hidrocarbonado, constituye un excelente sujeto experimental para poner de manifiesto la participación de dichos intermediarios en el metabolismo de los glúcidos. Con esta finalidad hemos estudiado, en primer lugar, la utilización del ácido pirúvico administrado, comparando el comportamiento de los animales normales y diabéticos y estudiando la acción de la insulina sobre dicha utilización y sobre la formación de ácido cítrico. Por último, hemos estudiado también el efecto sobre la citremia y piruvemia de la administración de glicosa, sola o acompañada de insulina en ambas clases de animales.

El interés de conocer más de cerca la acción de la insulina sobre los ácidos cítrico y pirúvico en el organismo animal es evidente, si se considera que KREBS y COOLESTON sostienen que la insulina estimula la utilización de la glicosa a través del ciclo del ácido cítrico, para cuyo desarrollo representa aquella hormona el factor limitante. Si esta tesis es exacta, debe encontrarse que la insulina activa la formación de cítrico, la cual debe aumentar en proporción a la activación de la utilización de los hidratos de carbono.

Por lo que respecta al papel de la insulina en la utilización del ácido pirúvico, poseemos observaciones de FLOCK, BOLLMANN y MANN, quienes encuentran que el perro diabético consume el pirúvico inyectado igual que el animal normal. Por otra parte, VON EULER y HOEGBERG y DELRUE y DEKEYSER han realizado observaciones acerca de la influencia de la insulina sobre la piruvemia. Los primeros autores observan una disminución de la piruvemia en la rata después de la inyección de insulina, mientras los segundos han encontrado en el conejo que la insulina aumenta la velocidad de desaparición del ácido pirúvico inyectado simultáneamente por vía intravenosa.

#### METÓDICA

Todas las experiencias descritas en este trabajo han sido realizadas en perros normales o diabéticos. En ambos casos los animales se hallaban en ayunas desde veinticuatro horas antes de la experiencia. Los diabéticos habían sido operados con bastante anterioridad y se hallaban mantenidos con insulina, que se suprimió por lo menos veinticuatro horas antes de la experiencia. Los perros pancreatectomizados se

usaron siempre después de haber cicatrizado la herida operatoria y estando en excelentes condiciones. La supervivencia postoperatoria de los animales es muy satisfactoria y en algunos de los empleados, en los que la administración de insulina se hizo con el debido cuidado, la supervivencia excede de los cinco meses en el momento de redactar este trabajo.

Las experiencias fueron llevadas a cabo en el animal sin anestesiar, practicando las tomas de sangre en la vena safena o en la femoral. Las inyecciones de pirúvico, glicosa o insulina se hicieron siempre por vía intravenosa, usando después otra vena para las tomas de sangre. En todos los casos se tomó siempre una muestra de sangre antes de practicar inyección alguna.

Las determinaciones químicas fueron idénticas a las empleadas en trabajos anteriores de esta serie. En las determinaciones de pirúvico en diabéticos se tuvo la precaución de evitar la interferencia de los cuerpos cetónicos, dejando el extracto de la 2-4-dinitrofenilhidrazona en éter acético, sobre agua, durante doce horas.

Las determinaciones de ácido cítrico se practicaron adaptando el método de PUCHER, SHERMAN y VICKERY al colorímetro fotoeléctrico de EVELYN.

Las muestras de sangre se señalan con los números I, II, etc. La número I corresponde a la muestra obtenida antes de la inyección de pirúvico, insulina o glicosa y las demás por orden cronológico a los distintos periodos de tiempo que siguen a la inyección.

#### DESCRIPCIÓN DE LOS RESULTADOS

a) *Utilización del ácido pirúvico inyectado en los perros diabéticos.* — Se han realizado ocho experiencias en cinco perros pancreatectomizados en los cuales se inyectó por vía intravenosa la cantidad de medio gramo de ácido pirúvico, exactamente neutralizado, por kilogramo de peso de animal. Los resultados parecen indicar que la velocidad de desaparición de la sangre, del ácido pirúvico inyectado, es inferior a la que se observa en los animales normales en condiciones análogas. Los resultados de los distintos experimentos son muy paralelos, como puede apreciarse en la tabla I.

Tabla I. — PIRUVEMIA (MG. POR 100 C. C.) EN PERROS DIABÉTICOS, DESPUÉS DE LA INYECCIÓN INTRAVENOSA DE 0.5 GRAMOS DE ÁCIDO PIRÚVICO POR KILOGRAMO DE ANIMAL

Minutos después de la inyección	EXPERIMENTO							
	25	26	27	28	29	30	31	34
2	3,30	—	—	—	24,00	—	—	—
3	—	—	5,94	12,40	—	23,20	10,00	16,60
4	—	3,26	—	—	—	—	—	—
12	2,72	2,64	—	—	22,60	15,36	—	—
15	—	—	5,90	10,80	—	—	—	12,28
24	2,80	—	—	—	18,72	—	—	—
30	—	2,04	5,28	—	—	—	5,76	7,04
32	—	—	—	6,92	—	10,64	—	—
60	—	—	—	4,30	8,00	7,12	2,72	—
80	—	—	—	3,04	6,50	—	—	—
95	—	—	—	—	—	3,40	1,64	—

Para facilitar la comparación con lo que ocurre en los animales normales, se ha construido una curva media con todas las experiencias, expresando la concentración de ácido pirúvico en cada momento en el tanto por ciento de la cifra máxima alcanzada en la primera muestra después de la inyección; dicha curva aparece reproducida en la figura 1, junto a una obtenida de manera semejante en una serie de experiencias realizadas en siete animales normales que recibieron igual dosis de ácido pirúvico. Una

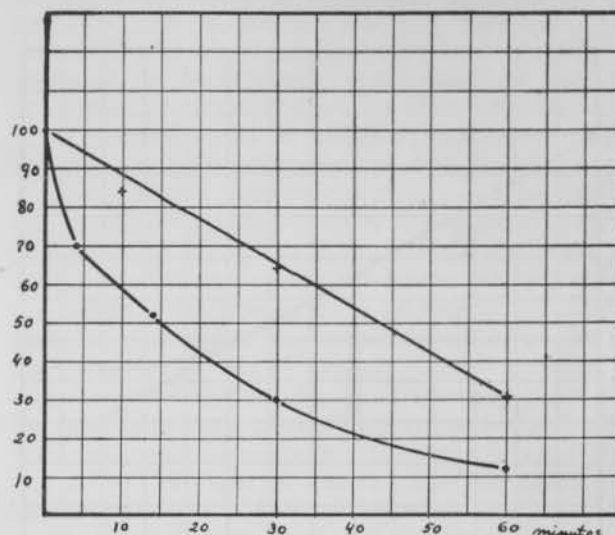


Fig. 1. — Piruvemia después de la inyección de 0.5 gm. de ácido pirúvico por kilogramo de animal y vía intravenosa. Valores en % de la cifra máxima alcanzada en la primera muestra después de la inyección. Curva superior, media de 8 experiencias en diabéticos, excepto el punto de 60 minutos que procede de cuatro experimentos. Curva inferior media de 7 experimentos en animales normales.

ojeada a dicha figura enseña que existe una notable diferencia entre las velocidades de desaparición del ácido pirúvico en los dos grupos de animales. Si consideramos que las variaciones del nivel de ácido pirúvico en la sangre dan una idea de la utilización del mismo en el organismo, hemos de deducir que los animales diabéticos utilizan dicha substancia más lentamente que los normales. A la media hora de la inyección el animal normal ha debido utilizar dos tercios del ácido inyectado, mientras que el diabético sólo ha consumido un tercio en el mismo tiempo. El animal diabético tarda algo más de hora y media en rebajar la piruvemia al nivel alcanzado por el normal en una hora.

Es digno de notarse que la utilización de pirúvico en el perro normal, calculada a partir de nuestros datos, arroja una cifra de un 88 por 100 por hora, para la dosis de 0.5 gramos por kilogramo, que coincide exactamente con la obtenida por FLOCK, BOLLMAN y MANN, por el método de la infusión continua. Es evidente que la sola variación de la piruvemia no es criterio bastante firme para deducir con seguridad las cifras de consumo de ácido pirúvico, pero la coincidencia que hemos apuntado hace pensar en que los resultados así obtenidos pueden tener al menos, un valor de orientación.

\* Según los valores medios de nuestras experiencias, los animales diabéticos consumen a la hora un

sesenta y nueve por ciento de la dosis de 0,5 gramos por kilogramo de peso, cifra evidentemente inferior a la obtenida en los animales normales.

Desde el punto de vista cualitativo la curva normal y la diabética se diferencian también marcadamente. La curva de los animales normales desciende rápidamente para hacerse casi horizontal conforme la piruvemia se acerca a la normal, describiendo una forma semejante a una hipérbola. En cambio, la curva de los diabéticos es prácticamente una línea recta. Mientras los animales normales consumen más

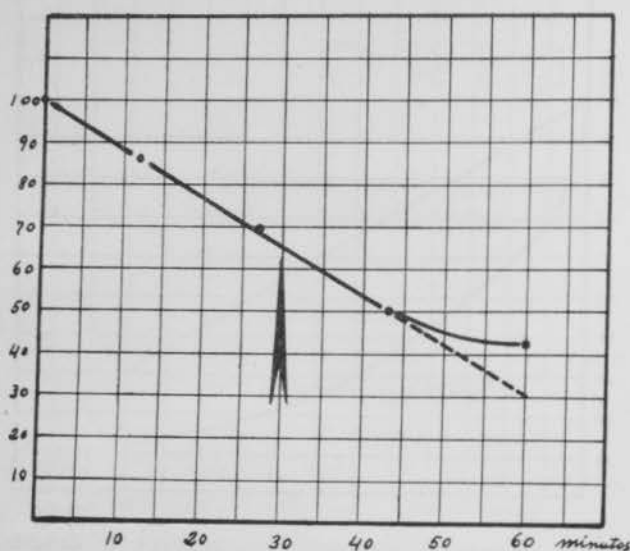


Fig. 2. — Efecto de la inyección de insulina (flecha) sobre la piruvemia en los animales diabéticos después de la inyección de 0,5 gm. de ácido pirúvico por kilogramo de peso de animal. Curva construida con los datos de la fig. 1. La línea de trazos representa el curso de la piruvemia en los cuatro experimentos sin inyección de insulina.

pirúvico a las concentraciones elevadas, los diabéticos parecen consumir en cada momento cantidades constantes e independientes de la concentración en la sangre.

b) *Influencia de la inyección de insulina sobre la utilización del ácido pirúvico inyectado en el perro diabético.* — En cuatro de las experiencias con perros diabéticos se practicó, media hora después de haber inyectado el ácido pirúvico, la inyección de una o dos U. I. de insulina por kilogramo de animal y vía intravenosa. La curva de la figura 2, trazada del mismo modo que la figura 1, enseña que la administración de insulina apenas tiene efecto sobre la velocidad de utilización del ácido pirúvico inyectado en estos animales y en todo caso, lo único que se observa es que la velocidad de utilización se hace un poco más lenta en la última muestra, con lo cual la forma de la curva tiende a parecerse más a la de los animales normales; pero quedando siempre las cifras a niveles más elevados. Es difícil, de momento, enjuiciar la significación de este hecho, con tan pocas observaciones. Por lo pronto es evidente que nuestros experimentos no concuerdan con los de DELRUE y DEKEYSER, que han observado en el conejo un aumento de la utilización del pirúvico por administración simultánea de insulina. Las diferencias en las condiciones experimentales son, por

otra parte, muy grandes para poder adoptar una posición definitiva a este respecto.

c) *Variaciones de la citremia después de la inyección de ácido pirúvico en los animales diabéticos, tratados o no con insulina.* — De la misma manera que ya describimos en el animal normal, el diabético muestra una marcada elevación de la citremia, que casi se duplica, cuando se le inyecta por vía intravenosa una cierta cantidad de piruvato manifestándose la elevación máxima a los 12-15 minutos de la inyección.

Los resultados que hemos obtenido en ocho experiencias, verificadas sobre cinco perros pancreatomizados, pueden verse en la tabla II, mientras que en la tabla III, representamos los valores obtenidos en ocho experimentos semejantes, realizados en animales normales. Las variaciones de la citremia en ambos grupos de animales se han representado en

Tabla II. — CIFRAS DE CITREMIA EN PERROS DIABÉTICOS (MG. POR 100 C. C.), DESPUÉS DE LA INYECCIÓN INTRAVENOSA DE 0,5 GM. DE ÁCIDO PIRÚVICO POR KILOGRAMO DE ANIMAL.

Minutos después de la inyección	EXPERIMENTO							
	25	26	27	28	29	30	31	34
A. iny.	2,87	3,35	1,32	2,18	1,58	2,31	2,25	1,52
2	3,99	—	—	—	2,72	—	—	—
3	—	—	2,47	2,99	—	5,98	—	2,28
4	—	5,80	—	—	—	—	—	—
12	4,59	—	—	—	2,89	5,14	3,75	—
15	—	5,76	—	3,80	—	—	—	1,97
24	4,29	—	—	—	2,67	—	—	—
30	—	3,95	2,59	—	—	—	3,57	1,78
32	—	—	—	5,16	—	4,82	—	—
60	—	—	—	2,86	2,47	4,62	2,42	—
80	—	—	—	2,22	2,18	—	—	—
95	—	—	—	—	—	4,26	2,79	—

Tabla III. — CIFRAS DE CITREMIA EN PERROS NORMALES (MG. POR 100 C. C.) DESPUÉS DE LA INYECCIÓN INTRAVENOSA DE 0,5 GRAMOS DE ÁCIDO PIRÚVICO POR KILOGRAMO DE ANIMAL.

Minutos después de la inyección	EXPERIMENTO							
	4	6	7	8	10	12	32	33
A. iny.	1,95	4,83	2,23	2,13	3,38	2,83	1,71	1,84
2	3,95	4,92	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	4,88	7,16	—	—	—
4	—	—	4,05	—	—	—	3,53	3,26
5	4,25	4,73	—	—	—	—	—	—
6	—	—	—	—	—	5,00	—	—
10	—	—	4,84	—	5,88	—	—	—
15	3,92	4,26	—	—	—	—	2,76	3,27
20	—	—	3,44	3,69	5,54	—	—	—
26	—	—	—	4,27	—	6,82	—	—
30	—	4,35	3,95	—	—	—	1,85	3,18
34	—	—	—	4,14	—	—	—	—
45	—	—	—	—	3,35	2,26	—	—
60	—	—	—	2,95	—	—	—	2,58



la figura 3, construida con las medias de las variaciones de la citremia expresada en el tanto por ciento de los valores de reposo. Las curvas de la figura 3 enseñan que las variaciones proporcionales de la citremia en ambos grupos de animales son muy parecidas en un principio; después, la respuesta del diabético parece más elevada y sostenida que la del

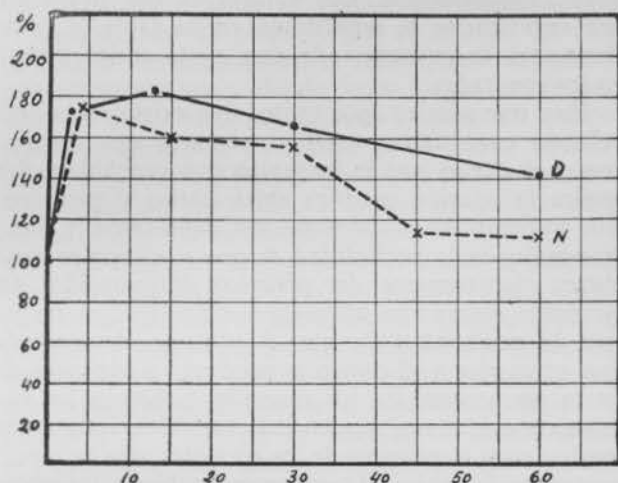


Fig. 3. — La citremia después de la inyección intravenosa de ácido pirúvico a la dosis de 0,5 gramos por kilogramo. Valores en % de la citremia inicial. Curva superior (trazo continuo) media de 8 experiencias en animales normales. Curva inferior (media de 8 experiencias) en animales diabéticos.

normal. La diferencia parece marcarse sobre todo a partir de los treinta minutos después de la inyección del piruvato, si bien estas cifras tienen menor valor por proceder sólo de cuatro experiencias.

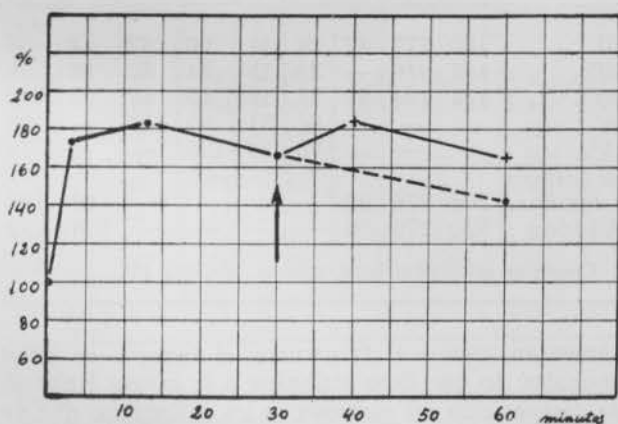


Fig. 4. — Efecto de la insulina sobre la curva de citremia después de la inyección de 0,5 gramos de pirúvico por kilogramo. Hasta 30 minutos, datos de la fig. 3. En la flecha inyección de insulina (cuatro experiencias). La línea de trazos representa el curso en los animales que no reciben insulina (fig. 3.)

De momento parece, por tanto, lícito concluir que el animal diabético responde a la inyección de pirúvico con una elevación de la citremia parecida a la que se observa en el animal normal. La mayor prolongación del aumento de la citremia en los diabéticos debe estar relacionada con la utilización más lenta del pirúvico que muestran estos animales. La piruvemia se mantiene elevada más tiempo en los animales diabéticos que en los normales y es posible que éste sea el motivo de la prolongación en la respuesta de la citremia.

En cuatro de las experiencias con animales diabéticos se practicó la inyección de insulina pasados treinta minutos de la administración del pirúvico. Los resultados de estos experimentos se han reproducido en la figura 4, construida de manera análoga a la anterior. Dicha figura muestra que la administración de insulina da lugar a una nueva elevación de la citremia que contrasta claramente con el curso en los animales no inyectados con dicha hormona. La administración de insulina favorece, pues, la formación de cítrico, después de la inyección del pirúvico; pero es evidente que esta hormona no es necesaria para la formación de cítrico durante la inyección de pirúvico, por cuanto ésta tiene lugar en el animal pancreatectomizado sin recibir insulina.

d) *Relación entre la citremia y piruvemia en los experimentos con sobrecarga de pirúvico en los perros normales y pancreatectomizados.* — Los resultados obtenidos en diversos tipos de experiencias hacen pensar que la elevación de la citremia observada en ciertas condiciones, puede producirse sin que exista un aumento simultáneo de la piruvemia. Ello indicaría la posibilidad de formación de ácido cítrico por otra vía distinta al ciclo de KREBS, a menos de admitir que la formación de cítrico tiene lugar con tal rapidez en estas circunstancias, que todo el pirúvico que pueda formarse se transforma íntegramente en cítrico, sin que se pueda observar nunca un aumento definitivo de la piruvemia.

El material experimental que poseemos hasta el presente no nos permite pronunciarnos de una manera definitiva en esta cuestión; pero, en cambio, es posible obtener una información útil acerca del mecanismo de formación del ácido cítrico, analizando los datos recogidos en las experiencias de administración de ácido pirúvico en los animales normales y diabéticos. En estas circunstancias, la elevación de la piruvemia, producida por la inyección de ácido pirúvico, se acompaña siempre de una elevación de la citremia, que puede considerarse como una consecuencia de la transformación, al menos en parte, del pirúvico inyectado. Aparentemente ésta es la explicación más sencilla y plausible de los hechos; no obstante, la variabilidad de las cifras y las cuestiones planteadas por otros resultados obligan a extremar la cautela antes de aceptar dicho punto de vista. Buscando nuevos datos para dilucidar esta cuestión, hemos estudiado la relación cuantitativa entre las cifras de citremia y piruvemia, después de la inyección de piruvato. Dicha relación ha sido calculada dividiendo la cifra de citremia por la de piruvemia, expresadas ambas en miligramos por 100 c. c. y multiplicando el cociente por 100. El índice o relación así obtenido, viene a representar, por tanto, el valor teórico que alcanzaría la citremia para una piruvemia hipotética de 100 miligramos por 100 c. c. Los valores de dicha relación obtenidos en las muestras de sangre, II a V, correspondientes a los períodos siguientes a la inyección del pirúvico, se encuentran en la tabla IV y como se ve muestran, en los dos primeros períodos, una cierta constancia, la que evidentemente viene a indicar la existencia de una cierta relación cuantitativa entre la citremia y piruvemia en esas condiciones. Aunque los valores varían de unas experiencias a otras, es evidente que esta va-

Tabla IV. — COCIENTE CITREMIA: PIRUVEMIA EN LOS EXPERIMENTOS DE INYECCIÓN DE PIRÚVICO EN LOS PERROS NORMALES

Muestra	EXPERIMENTO								Media
	4	5	7	8	10	12	32	33	
II. . .	37	40	94	36	78	66	47	57	57
III. . .	30	44	92	60	—	—	49	59	56
IV. . .	49	59	69	84	100	157	97	83	87
V. . .	—	187	127	—	—	83	—	177	143

Los cocientes se obtienen dividiendo las cifras de citremia por las de piruvemia de la misma muestra, ambas expresadas en miligramos por 100 c. c. y multiplicando el cociente por ciento.

riación es pequeña si se compara con la que ofrecen las cifras directamente obtenidas de citremia y piruvemia. El valor de la relación permanece constante en las dos períodos correspondientes a las muestras II y III, lo que debe indicar que en este período de tiempo existe una relación constante entre el pirúvico que existe en la sangre y el cítrico que se va formando. En los períodos más tardíos el cociente va aumentando de valor, lo que probablemente significa que en estos momentos el pirúvico ha descendido más de prisa que el cítrico, lo que es fácil de comprender, si se tiene en cuenta la gran reactividad de dicho cetoácido.

En estos últimos períodos es evidente que el cociente no puede expresar la relación entre piruvemia y cítrico formado, ya que, seguramente, los valores de pirúvico bajan muy de prisa en relación con la cifra de cítrico, que continúa elevada, no sólo por el nuevo ácido cítrico que pueda continuar formándose, sino porque el formado en períodos anteriores va desapareciendo más lentamente que el pirúvico.

Una manera más exacta de obtener información acerca de la relación existente entre la desaparición del pirúvico y la formación de cítrico, puede obtenerse calculando en los primeros períodos después de la inyección la diferencia de concentración de pirúvico y cítrico. De esta manera podemos calcular teóricamente la cantidad de cítrico que se forma en ese período de tiempo, en relación con la cantidad de pirúvico que desaparece. El cálculo ha sido realizado sumando las citremias en las muestras II y III y dividiendo por 2 esta suma, restando ahora del co-

Tabla V. — CANTIDAD DE ÁCIDO CÍTRICO EN MILIGRAMOS QUE CORRESPONDE TEÓRICAMENTE POR CADA 100 MILIGRAMOS DE ÁCIDO PIRÚVICO DESAPARECIDO POR 100 C. C. DE SANGRE

Experimento	4	Cítrico formado, 61 mg.
»	5	» » 78 »
»	10	» » 70 »
»	12	» » 95 »
»	32	» » 78 »
»	33	» » 72 »
Media		76 »

cienta la citremia de reposo (muestra I). La diferencia se divide por la diferencia de la piruvemia entre ambas muestras de sangre II y III), después de la inyección y el cociente se multiplica por 100. De este modo obtenemos teóricamente la cantidad de ácido cítrico en miligramos que se habría formado en este período de tiempo, por cada 100 miligramos de pirúvico desaparecidos. Los valores de este índice en seis experiencias se reproducen en la tabla V, que demuestra la existencia de una cierta uniformidad en los resultados.

Hay que admitir, por tanto, que existe una cierta relación cuantitativa entre el pirúvico que desaparece y el cítrico que se forma lo que probablemente indica la relación genética entre cítrico y pirúvico. Sin embargo, estos datos no son definitivos, y aunque indiquen la posibilidad de que el cítrico se produzca efectivamente del pirúvico desaparecido, no permiten sentar una afirmación definitiva, ni excluyen la posibilidad de que el pirúvico desaparezca por otras vías y el cítrico se produzca a expensas de otros precursores. En los animales diabéticos los valores obtenidos son mucho más variables, aunque las medias para el primero de los cocientes, que se representan en la tabla VI, sean comparables a las obtenidas en los normales. Los valores del cociente

Tabla VI. — COCIENTES CITREMIA: PIRUVEMIA EN LOS EXPERIMENTOS DE INYECCIÓN DE PIRÚVICO EN LOS PERROS DIABÉTICOS

Muestra	EXPERIMENTO								Media
	25	26	27	28	29	30	31	34	
II. . . . .	120	177	42	24	11	26	37	14	56
III. . . . .	167	216	—	35	13	34	62	16	78
IV. . . . .	154	194	47	74	14	45	89	25	80
V. . . . .	—	—	—	66	31	65	170	—	83
VI. . . . .	—	—	—	73	33	125	—	—	77
V después insulina.	208	276	92	—	—	—	—	49	156
VI ídem.	320	276	83	—	—	—	—	208	222

Cocientes calculados igual que en la tabla IV.

aumentan menos al transcurrir el tiempo, en estos animales; lo que debe atribuirse a la mayor lentitud de desaparición del pirúvico en los diabéticos, que ya hemos señalado. Lo más interesante en estas experiencias es, sin duda, el efecto obtenido por la administración de insulina. En todos los casos, sin excepción, la inyección de esta hormona ha producido una considerable elevación del cociente, muy explicable si se recuerda que en estas circunstancias se eleva la citremia, mientras la piruvemia tiende a descender más lentamente. Evidentemente, el aumento del cociente es debido a la mayor formación de cítrico y no a un descenso más marcado del pirúvico, como ocurre en los períodos finales en los animales normales. En estas circunstancias habría, por tanto, una mayor formación de cítrico para la misma cantidad de pirúvico desaparecido, suponiendo que el cítrico sólo procediese del pirúvico que desaparece. Naturalmente, nuestras observaciones no excluyen la

posibilidad de que la insulina active otras reacciones formadoras de cítrico distintas de la transformación pirúvico-cítrico. El hecho de que durante la acción de la insulina el ácido pirúvico desaparezca más lentamente haría pensar en que esta hormona dificulta su transformación y que el cítrico formado proviene de otras fuentes; pero es también posible que la insulina actúe de hecho encaminando toda la desaparición de pirúvico por el camino del ciclo de KREBS, impidiendo así la desaparición del mismo por otros caminos y dando lugar a una mayor producción de cítrico, aun cuando el pirúvico desaparecido se encuentre en menor proporción. Teóricamente es admisible pensar que la velocidad de transformación del pirúvico sea menor al quedar reducida a la sola vía de formar cítrico.

e) *El efecto de la inyección de insulina sobre la citremia y piruvemia en los perros normales.* — Con objeto de estudiar el efecto de la insulina sobre la citremia y piruvemia de los animales normales, hemos realizado una serie de experiencias en ocho perros normales, cuyos resultados se reproducen en las tablas VII y VIII. En la primera de dichas tablas se encuentran las cifras de glicemia, piruvemia y citremia, antes y después de la inyección intravenosa de una unidad internacional de insulina por kilogramo de peso del animal. Con una sola excepción pue-

de verse que la inyección de insulina, aparte de su efecto hipoglicemiante, ha producido una elevación evidente de la citremia, que resulta muy marcada en algunos casos. La piruvemia no parece haber experimentado alteraciones evidentes, al menos nada puede deducirse de nuestras observaciones este respecto.

En la tabla VIII presentamos de manera análoga los resultados obtenidos después de la administración de glicosa. Ésta se hizo siempre cuando el efecto insulínico se encontraba en pleno desarrollo, como puede deducirse de las bajas cifras de glicemia. La persistencia del efecto insulínico es evidente si se observa el descenso de la cifra glicémica después de la inyección de azúcar, en los casos en que la muestra se tomó tardíamente en relación con la inyección de azúcar (experiencias 15, 17, 18 y 20). Las cantidades de azúcar inyectadas variaron entre 4 y 10 gramos, y cuando las muestras de sangre se tomaron poco tiempo después de la inyección, se observa una elevación del nivel glicémico.

Las diferencias de concentración del ácido cítrico antes y después de la administración de azúcar, son más marcadas que las que se obtienen por la simple administración de insulina. Igual que ocurría con los valores anteriores, tampoco aquí se puede decir nada definitivo respecto al comportamiento de las cifras de piruvemia.

Cuando se sigue en el tiempo el efecto de la inyección de insulina se observa que la citremia se mantiene elevada durante un cierto tiempo, para volver a caer y ascender de nuevo, al inyectar el azúcar. En general la marcha de todas las experiencias fué muy paralela y las curvas de citremia obtenidas sólo se diferencian por los distintos momentos en que se han tomado las muestras y practicado la inyección de glicosa. La citremia experimentó, por tanto, una elevación después de inyectar insulina, y esta elevación se repite con mayor intensidad al inyectar glicosa. Cuando la inyección de ésta sigue muy de cerca a la de insulina, la segunda elevación se continúa con la primera, dando a la curva un solo máximo; a la inversa, al separar en el tiempo ambas inyecciones, se obtienen dos efectos claramente separados.

De este grupo de experiencias debe deducirse, por tanto, que el efecto insulínico, sólo o sumado al de la administración de glicosa, se traduce por una marcada elevación de la citremia.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en los experimentos que acabamos de describir pueden resumirse del modo siguiente:

1.º Los animales diabéticos utilizan el ácido pirúvico inyectado más lentamente que los animales normales; pero la insulina no parece estimular, en nuestras condiciones, el consumo de pirúvico.

2.º La administración de pirúvico a los animales diabéticos da lugar a una elevación de la citremia análoga a la observada en los animales normales y más bien un poco más sostenida. La administración de insulina después de la inyección del piruvato, origina una nueva elevación de la citremia.

Tabla VII. — EFECTO DE LA INYECCIÓN DE INSULINA SOBRE LA GLICEMIA, PIRUVEMIA Y CITREMIA. CIFRAS EN MILIGRAMOS POR 100 C. C. DE SANGRE

Experimento	Tiempo después insulina	Glicemia		Piruvemia		Citremia	
		Antes	Desp.	Antes	Desp.	Antes	Desp.
13	10'	80	50	0,40	0,46	2,45	2,77
14	10'	84	50	0,34	0,24	2,34	3,44
15	10'	98	46	—	—	3,48	3,82
16	12'	80	48	—	—	4,26	5,04
17	10'	76	44	—	—	1,42	2,90
18	11'	74	46	—	—	4,42	4,31
19	11'	84	48	0,30	0,35	2,29	3,03
20	20'	76	48	0,68	0,68	2,60	2,97
Medias						2,90	3,53

Tabla VIII. — EFECTO SOBRE LA CITREMIA Y PIRUVEMIA DE LA ADMINISTRACIÓN DE GLICOSA DURANTE LA ACCIÓN DE LA INSULINA. CIFRAS EN MILIGRAMOS POR 100 C. C.

Experimento	Tiempo después glicosa	Glicemia		Piruvemia		Citremia	
		Antes	Desp.	Antes	Desp.	Antes	Desp.
13	5'	46	70	0,42	0,33	2,12	2,78
14	6'	50	112	0,68	0,74	2,32	5,41
15	15'	28	38	—	—	3,34	4,97
16	8'	54	128	—	—	3,36	4,14
17	15'	36	42	—	—	1,85	3,46
18	15'	36	34	—	—	4,33	4,82
19	5'	36	160	0,44	0,20	2,60	3,15
20	15'	32	60	0,70	0,90	2,97	3,75
Medias						2,86	4,12



3.º En los animales normales la administración de insulina produce una elevación de la citremia, que se aumenta por la administración de glicosa.

Es evidente que en el momento actual aun no poseemos datos suficientes para explicar satisfactoriamente todas estas observaciones, algunas de las cuales, por otra parte, deben sufrir aún una confirmación experimental más amplia en otras condiciones. Limitaremos por tanto nuestra discusión a hacer algunas observaciones sobre dichos resultados, en relación con los datos existentes en la literatura a nuestro alcance.

Parece evidente que los perros diabéticos utilizan el pirúvico inyectado con más lentitud que los animales normales, a pesar de lo cual la administración de insulina no parece acelerar la desaparición del pirúvico de la sangre. No debe ser, por tanto, la falta de insulina la causante del descenso en la velocidad de utilización del pirúvico y éste puede ser utilizado por el organismo en ausencia de la increción pancreática. Quizá habría que pensar que las alteraciones del parénquima hepático y sobre todo la degeneración grasa del mismo que se observa en los animales diabéticos, podrían ser la causa de esta peor utilización del pirúvico en dichos animales. En un trabajo anterior, GRANDE ha puesto de manifiesto las alteraciones de la piruvemia en los animales con ligadura de colédoco, y dado el importante papel de la viscera hepática en la destrucción del ácido pirúvico, del que nos ocuparemos en la siguiente comunicación de esta serie, parece razonable pensar que una alteración de dicha función puede alterar el mecanismo de utilización del pirúvico, al menos parcialmente. Por otra parte, nuestras experiencias no excluyen la posibilidad de que la insulina administrada al mismo tiempo que el pirúvico, produzca un efecto acelerador de la utilización de éste, como parecen haber observado DELRUE y DEKEYSER, según ya hemos señalado. Los resultados hasta ahora sólo nos permiten afirmar, por tanto, la menor velocidad de utilización del ácido pirúvico del animal diabético en nuestras condiciones experimentales; pero sin que podamos atribuir este hecho a la ausencia de la increción insular. A este respecto debemos recordar, además, que FLOCK, BOLLMAN y MANN no han observado diferencias en la utilización del ácido pirúvico inyectado entre los animales normales y diabéticos, si bien sus condiciones experimentales son distintas de las nuestras y el piruvato fué administrado por infusión y no por inyección como nosotros hicimos.

La elevación de la citremia consecutiva a la inyección de pirúvico, que hemos descrito en los animales normales, se manifiesta también en los diabéticos. El aspecto de la curva de citremia, como ya señalamos, es muy parecido al de los animales normales, aunque tiende a mantenerse más elevada en los períodos finales (segunda media hora), como se ve en la figura 3. También señalamos que esta elevación más sostenida de la citremia, puede estar relacionada con la mayor lentitud en la desaparición del pirúvico. Lo más sorprendente es que en estas condiciones la inyección de insulina aumente de nuevo la citremia sin alterar la piruvemia o más bien tendiendo a hacer más lenta la velocidad de desaparición del pirú-

vico. Así, pues, la insulina, que no parece necesaria para la elevación de la citremia durante la inyección de pirúvico, es capaz de producir una nueva elevación de la misma sin que la piruvemia manifieste una alteración evidente, puesto que la elevación de la citremia se manifiesta antes de que la desaparición del pirúvico muestre alteración alguna, como puede deducirse comparando las figuras 2 y 4. Surge la cuestión de si esta nueva elevación de la citremia tiene algo que ver con la piruvemia aumentada o no. Teóricamente, si la elevación de la citremia responde a una transformación del pirúvico en cítrico, parece lógico admitir que la insulina en estas condiciones debía activar la desaparición del pirúvico y debíamos observar, por tanto, más bien un descenso de la piruvemia. Así, pues, si admitimos que la elevación de la citremia que sigue a la administración de pirúvico se debe a una formación de ácido cítrico a partir de aquél, tenemos que admitir también que la insulina es innecesaria para dicha transformación, puesto que tiene lugar en el animal pancreatectomizado. Si este fenómeno representa el resultado de la puesta en juego o la aceleración del ciclo de KREBS, es evidente que dicho ciclo puede cursar sin insulina, lo que contradice de lleno la opinión de KREBS y EGGLESTON, que hemos referido al principio. La segunda elevación, después de la insulina podría, por tanto, ser debida a otro mecanismo puesto en juego por esta hormona y distinto de la transformación directa de pirúvico en cítrico. Aunque no podemos afirmar que el fenómeno que nos ocupa se deba a una transformación de parte del pirúvico inyectado en cítrico, es evidente que con cual sea el mecanismo, puede verificarse en ausencia de la insulina, deducción que creemos de interés teórico, dada la evidente importancia del ácido pirúvico como intermediario en el metabolismo hidrocarbonado. Es posible que el papel de la insulina se verifique antes de la transformación pirúvico-cítrico, y más exactamente en el proceso de formación del pirúvico. Así parecen indicarlo los resultados de BUEDING, FAZEKAS, HERRLICH y HIMWICH, según los cuales la administración de glicosa por vía intravenosa al animal diabético no va seguida de elevación de la piruvemia, restableciéndose en cambio dicho proceso al administrar insulina. Estos hechos demostrarían que la insulina es necesaria para la formación de pirúvico durante la utilización de la glicosa inyectada. Sin embargo, algunas experiencias previas que hemos realizado sobre esta cuestión no nos permiten aceptar todavía de lleno el punto de vista de los autores americanos, por lo que no contamos aún con elementos de juicio suficientes para adoptar una posición en cuanto a cuál sea el punto de acción de la insulina. Lo único evidente, a nuestro juicio, es que esta hormona no es necesaria para que se verifique la formación de cítrico cuando se inyecta ácido pirúvico.

En los animales normales la inyección de insulina produce siempre una elevación marcada de la citremia, cuya intensidad aumenta aún, si se administra glicosa. Ello demuestra que el proceso de utilización de los hidratos de carbono, estimulado por la insulina, se acompaña de una activación del ciclo formador del cítrico. La dificultad para admitir esta conclusión, estriba en que los experimentos realiza-

dos no muestran una variación evidente de la piruvemia bajo la acción de la insulina, siendo así que debíamos haber observado una elevación marcada, según acabamos de indicar y según ocurre al inyectar glicosa sola. Claro está que es posible que la transformación pirúvico-cítrico en estas condiciones sea tan rápida que el primero de dichos ácidos no se acumule y pase inmediatamente a formar ácido cítrico, conforme se va produciendo. Este último grupo de experimentos, aunque no aclara el mecanismo de formación del cítrico, es a nuestro juicio una buena prueba de la participación del ciclo del cítrico, o al menos de este ácido, en el metabolismo hidrocarbonado.

Las experiencias comunicadas no bastan por tanto para aclarar el mecanismo de acción de la insulina en el metabolismo intermediario de los glúcidos, pero permiten afirmar la existencia de una cierta relación entre la acción de la insulina y la formación del ácido cítrico, durante la utilización de glicosa; así como también que dicha hormona no es necesaria, para la formación de ácido cítrico después de la inyección de pirúvico.

#### CONCLUSIONES

1. Los animales diabéticos utilizan el ácido pirúvico inyectado por vía intravenosa más lentamente que los animales normales, en nuestras condiciones experimentales; pero este efecto no parece debido a la falta de increción insular.
2. La inyección de ácido pirúvico a los animales diabéticos va seguida de una elevación de la citremia parecida a la que se observa en los animales normales.
3. La administración de insulina produce en los animales normales una elevación de la citremia, que se hace más intensa por la administración de glicosa.
4. La insulina no parece necesaria para la formación de ácido cítrico, después de la inyección de pirúvico.
5. El papel de la insulina en el metabolismo de los ácidos pirúvico y cítrico ha sido discutido.

*Nota.* — Los autores desean expresar su agradecimiento a las señoritas C. Díaz-Rubio y S. y A. González Aja, por su valiosa ayuda durante la ejecución de los experimentos reseñados en el presente trabajo.

#### BIBLIOGRAFÍA

- BUEBING, E., FAZEKAS, J. F., HERRLICH, H., y HIMWICH, H. E. — *Science*, 95, 282, 1942.  
DELRUE, G., y DEKEYSER, J. — *Compt. rend. Soc. Biol.*, 13, 709, 1940.  
EULER, H. V., y HOEGBERG, B. — *Zeits. physiol. Chem.*, 263, 49, 1940.  
FLOCK, E., BOLLMAN, J. L., y MANN, F. C. — *Jour. Biol. Chem.*, 125, 49, 1938.  
GRANDE COVIAN, F., y OYA, J. C. — *Rev. Clin. Esp.*, 8, 309, 1943.  
GRANDE COVIAN, F. — *Rev. Clin. Esp.*, 9, 382, 1943.  
KREBS, H. A. — *Lancet*, 233, 736, 1937.  
KREBS, H. A., y EGGLESTON, P. — *Biochem. J.*, 32, 913, 1938.  
OYA, J. C. DE, y RODRÍGUEZ MIÑON, J. L. — *Rev. Clin. Esp.*, 5, 13, 1942.

#### ZUSAMMENFASSUNG

1. Bei unseren Versuchsbedingungen nutzen diabetische Tiere die intravenös injiziert. Brenztraubensäure langsamer aus als normale Tiere. Doch scheint diese Wirkung nicht auf Fehlen des Inselsekretes zu beruhen.

2. Die Injektion von Brenztraubensäure ruft bei diabetischen Tieren ein Ansteigen der Zitronensäure im Blute hervor, wie wir es auch bei normalen Tieren finden.

3. Die Verabreichung von Insulin führt bei normalen Tieren zur Erhöhung der Blutzitronensäure, welche durch die Verabfolgung von Traubenzucker noch intensiver wird.

4. Insulin scheint nach der Brenztraubensäureinjektion für die Bildung von Zitronensäure nicht notwendig zu sein.

5. Die Rolle des Insulins im Haushalt der Brenztrauben — und Zitronensäure wird besprochen.

#### RÉSUMÉ

1. Les animaux diabétiques utilisent l'acide pyruvique injecté par voie intraveineuse plus lentement que les animaux normaux dans nos conditions expérimentales; mais cet effet ne semble pas être dû au manque d'incrétion insulaire.

2. L'injection d'acide pyruvique chez des animaux diabétiques est suivie d'une élévation de la citrémie semblable à celle que l'on obtient chez les animaux normaux.

3. L'administration d'insuline produit chez les animaux normaux une élévation de la citrémie qui devient plus intense par l'administration de glycose.

4. L'insuline ne semble pas être nécessaire pour la formation d'acide citrique après l'injection de pyruvique.

5. On fait des considérations sur le rôle de l'insuline dans le métabolisme des acides pyruvique et citrique.

#### ESTUDIOS SOBRE LAS TRIGONITIS

##### I. Estudio clínico

##### L. CIFUENTES DELATTE

*Clinica de Urología del Hospital de la Princesa de Madrid*  
Director: DR. P. CIFUENTES

Entre las diversas formas de cistitis hay un grupo de gran interés que presenta características peculiares muy definidas que le separan por completo del resto de las lesiones vesicales inflamatorias. Se trata de una inflamación localizada estrictamente a la región del trigono y con mucha frecuencia también al cuello de la vejiga, casi siempre de aspecto pseudomembranoso, frecuentemente de curso crónico, sin lesión renal, sin un tipo constante y específico de infección urinaria y que algunas veces responde favorablemente a la eliminación de un foco séptico extraurinario.

Todavía hoy día existe mucha confusión en este gran grupo de afecciones urológicas: las cistitis. El autor ha observado que no se presta una profunda atención a este grupo de enfermedades en gran par-