

CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE LA GLUCOLISIS SANGUINEA (1)

Por JUAN ROCA Y ROBERTO LLAMAS
del Instituto de Biología.

Observaciones ya antiguas de Claudio Bernard, demostraron que el azúcar sanguíneo desaparece lentamente de la sangre extravasada, es decir, que en estas condiciones se efectúa el interesante fenómeno biológico de la glicolisis. Lepine, cuyas investigaciones sobre estos asuntos son tan conocidas, estudió a su vez este fenómeno e insistió sobre la existencia en la sangre de diversas formas de azúcar, hablaba del "sucre immediat" y del "sucre virtuel", por el primero se entendía el disuelto al estado molecular y por azúcar virtual el que existía en forma desconocida y revelable solamente mediante la acción de fermentos o de agentes hidrolizantes; se establecía esta diferencia también por los distintos resultados obtenidos en las cifras indicadoras de la glicemia: al practicar esta determinación, con sangre inmediatamente recogida, la cantidad de glucosa encontrada era ligeramente inferior a la encontrada poco tiempo después en la misma sangre: la primera representaría el azúcar inmediato y la segunda (descontada la cifra de la primera determinación) representaría el azúcar virtual, cuya proporción se estimaba como muy baja y sin importancia en la determinación de la glicemia. Levene y Meyer demostraron que los leucocitos transforman la glucosa en ácido láctico, y Evans encuentra relación entre la cantidad de glucosa destruida y la cantidad de ácido láctico formado; habremos de ver más tarde, sin embargo, que en nuestras determinaciones no aparece este paralelismo.

La glicolisis se acelera o se retarda de acuerdo con distintas circunstancias: temperaturas de 37 grados centígrados la aceleran, temperaturas de 58 grados la hacen desaparecer, seguramente por des-

(1) Entregado para su publicación el día 15 de julio de 1940.

trucción de las enzimas o de las sustancias de otra índole a cuyo cargo está la transformación sanguínea de la glucosa; otros factores intervienen en la glicolisis, tales como el pH, las concentraciones iónicas, etc. etc. Un punto de singular importancia es el considerar si la sangre diabética conserva o no su poder glucolítico, para Tolstoi el azúcar desaparece rápidamente de la sangre normal, pero persiste en la sangre diabética; experiencias muy anteriores de Lepine demostraron la ausencia de glucolisis en la sangre de animales pancreatizados, glucolisis que reaparecía mediante la adición de extractos pancreáticos; Denis y Giles afirman también la disminución del poder glucolítico de la sangre diabética. Estos resultados, sin embargo, no han sido confirmados por todos los autores, McLean dice que la sangre diabética conserva su poder glucolítico, y de sus experimentos se deduce que la glucolisis es aún mayor en las sangres diabéticas examinadas que en las normales.

Hemos estudiado el poder glucolítico de 31 muestras de sangres normales, es decir, cuya proporción de glucosa oscilaba entre 60 y 120 miligramos por cien centímetros cúbicos, y 27 muestras de sangre diabética, es decir con cifras de glicemia superiores a 120 miligramos por cien; en ambos grupos hemos hecho subdivisiones de acuerdo con el número de horas transcurridas desde la toma de sangre hasta el momento de la determinación, son estas 48,24 y 6 horas. Las muestras de sangre, además, permanecieron a temperatura aproximada de 37 grados centígrados.

SANGRES NORMALES

Determinación de glucolisis a las 48 horas

Miligramos de glucosa por cien	Miligr. de glucosa en la 2a. determ.	Glucolisis expresada en miligr.	POR CIENTO
95	15	80	84
110	20	90	82
118	19	99	84
116	16	100	86
113	13	100	87
88	12	76	86
95	7	88	93

SANGRES NORMALES

Determinación de glucólisis a las 24 horas

Miligramos de glucosa por cien	Miligr. de glucosa en la 2a. determ.	Glucólisis expresada en miligr.	POR CIENTO
87	23	64	74
112	48	64	57
97	35	62	64
120	28	92	77
78	25	53	65
95	19	76	80
97	26	71	73
120	17	103	86
78	18	60	77
70	21	49	70
110	35	75	68

SANGRES NORMALES

Determinación de glucólisis a las 6 horas.

Miligramos de glucosa por cien	Miligr. de glucosa en la 2a. determ.	Glucólisis expresada en miligr.	POR CIENTO
90	83	7	8
103	45	58	56
120	58	62	51
78	70	8	10
87	78	9	10
112	81	31	27
118	110	8	7
90	83	7	8
103	45	58	56
100	52	48	48
115	66	39	34
112	47	65	58
87	63	24	28

Se puede observar que la glucólisis en la sangre extravasada es un hecho evidente, y que las cantidades de glucosa destruida (expresada en miligramos o tomando el por ciento), oscila dentro de límites poco amplios en las observaciones efectuadas a las 48 horas, lo que se explica por el hecho de que la sangre ha tenido tiempo suficiente para destruir la casi totalidad de su glucosa; la cifra máxima de la glicólisis en estas condiciones fué de 93 y la mínima de 82

por ciento, es decir, son cifras que no divergen mucho entre sí. La glucolisis a las 24 horas ofrece resultados igualmente constantes, oscilan entre 57 como mínimo y 86 por ciento como máximo, pero predominando notablemente las glucolisis alrededor de 70 a 75 por ciento. Los resultados obtenidos al estudiar la glucolisis seis horas después de la toma de sangre, ofrecen un aspecto completamente diverso, se caracterizan por su notable variabilidad, pues junto a cifras de 7 y 8 por ciento se encuentran otras de 56 y 58 por ciento. Estas diferencias en el fenómeno de la glucolisis quizás puedan explicarse por el hecho de que las cimazas sanguíneas, existentes sobre todo en los leucocitos, se ponen en libertad después de transcurrido un tiempo suficientemente largo y a las 48 y 24 horas la liberación de las mencionadas cimazas puede decirse que es completa y de ahí la constancia de las cifras indicadoras del azúcar destruido; la glucolisis a las seis horas es relativamente inconstante en sus resultados por el hecho inverso: liberación incompleta y distinta para las diversas muestras de las cimazas leucocitarias. Pero es necesario tener en cuenta que en el fenómeno de la glucolisis sanguínea han de intervenir otros agentes entre los que la insulina debe colocarse en primer término.

La glucolisis debe ser estudiada en sangres anormales, es decir en pertenecientes a diabéticos, para tratar de aclarar el debatido punto sujeto siempre a discusión, de la capacidad o incapacidad de esta sangre de destruir, extravasada, la glucosa que contiene. Determinaciones análogas a las anteriores han sido efectuadas por nosotros, pero en sangres cuya cantidad de glucosa excede los 120 miligramos por cien centímetros cúbicos.

SANGRES ANORMALES

(Diabéticos)

Determinación de glucolisis a las 48 horas

Miligramos de glucosa por cien	Miligr. de glucosa en la 2a. determ.	Glucolisis expresada en miligr.	POR CIENTO
118	9	179	95
207	20	187	90
176	22	154	88
230	12	218	90
132	12	120	90
140	21	119	85
136	9	127	93
215	13	202	93

SANGRES ANORMALES

Determinación de glucólisis a las 24 horas

Miligramos de glucosa por cien	Miligr. de glucosa en la 2a. determ.	Glucólisis expresada en miligr.	POR CIENTO
138	23	115	83
240	21	219	91
320	45	275	86
144	38	106	74
122	40	82	68
156	32	124	79
140	31	109	78
130	45	85	65
135	42	93	69
148	33	115	78

SANGRES ANORMALES

Determinación de glucólisis a las seis horas

Miligramos de glucosa por cien	Miligr. de glucosa en la 2a. determ.	Glucólisis expresada en miligr.	POR CIENTO
203	200	3	2
340	312	28	8
220	140	80	36
140	115	25	18
132	127	5	4
203	200	3	1.5
138	119	18	13
203	189	14	7
309	280	29	9
168	140	28	16
212	188	24	11
172	150	22	12

En las sangres diabéticas se observan hechos interesantes que no mencionan ni los que afirman la incapacidad glucolítica de dichas sangres ni los que la niegan. La glucólisis a las 48 horas existe evidentemente y con una constancia en resultados igual a la obtenida en sangres normales; la destrucción de glucosa llega hasta el 95 por ciento como máximo y al 85 como mínimo; se puede concluir, por lo tanto, que la sangre diabética conserva su poder glucolítico cuando

ha podido actuar un tiempo suficientemente largo. La glucólisis a las 24 horas es sensiblemente igual a la observada en sangres normales en el mismo lapso.

De acuerdo con lo anterior, podría pensarse que la glucólisis a las seis horas en las sangres anormales sería menor que en las normales, pues en este lapso las cimasas propias de la sangre, muy probablemente de origen leucocitario, no habrían tenido tiempo de actuar, y la destrucción de la glucosa correría a cargo, de la insulina, hormona que, en la sangre diabética se encuentra forzosamente en menor cantidad.

Los resultados de nuestras determinaciones de glucólisis a las seis horas en sangres anormales, dan algunas cifras bajas, hasta del 1.5 y del 2 por ciento, pero no son resultados constantes, pues muchas otras son altas: 18 y 36 por ciento; en vista de esta discordancia, procedimos a examinar, aún más cuidadosamente si se quiere, nuevas muestras de sangres anormales, y encontramos que los resultados obtenidos no permiten asegurar que se encuentre disminuido su poder glucolítico.

Estas nuevas determinaciones están consignadas en el cuadro que expresa la glucólisis de sangres anormales a las seis horas de extraídas y glucólisis a las seis horas previa adición de 100 miligramos de glucosa por ciento.

Un punto de extraordinario interés en el estudio del metabolismo de los glúcidos es el referente a la existencia de formas activas de glucosa sanguínea, distintas a las ya conocidas de estructura aldehídica o a las conocidas como formas alfa y beta. Recordaremos que Winter y Smith creen haber demostrado la existencia de la forma gama, y que Lundsgaard habla de la neoglucosa; sabemos que la glucosa ordinaria disuelta en agua adquiere la forma llamada alfa-beta, y los mencionados autores consideran que la única capaz de intervenir en el metabolismo intermediario es la activa, llámesele gama glucosa o neoglucosa. Esta forma activa no ha llegado a ser demostrada de modo definitivo y convincente; algunos autores (Steep, Winter, Smith, Forrest Denis etc.), encuentran divergencias entre la rotación óptica de los filtrados de sangre y el poder reductor de los mismos, divergencias que no aparecen en las sangres diabéticas y que pueden ser producidas por adición de insulina; de acuerdo con estos experimentos, la insulina modificaría la estructura de la glucosa, lo que se traduciría por la aparición de las mencionadas divergencias entre la rotación óptica y la reducción.

La insulina desempeña importante papel en la síntesis del glicógeno hepático: la sangre de la vena porta lleva monosacáridos resultantes de las acciones hidrolíticas de las cimasas digestivas, con estos materiales el hígado sintetiza, por polimerización, el glicógeno, pero se piensa en que estos cuerpos modifican espacial y funcionalmente su molécula transformándose en glucosa, y sobre todo, en una forma especial de glucosa apta para la síntesis del glucógeno, o como suponen algunos autores (Isaac), se formaría una forma activa común a los monosacáridos y apta para su inmediata polimerización. La insulina participa en esta síntesis? El hecho es indudable: la hormona y el tejido hepático la realizan, de aquí que en el caso de diabetes pancreática no se forme glucógeno y la glucosa pase a la circulación, rebase el dintel renal y aparezca en la orina.

La glucosa liberada del glucógeno es la única que puede ser metabolizada por liberarse bajo una forma diferente, la forma activa, neoglucosa o glucosa gama? Creemos que no, y hechos experimentales parecen comprobarlo: si a un perro se le extirpa el hígado, la glicemia desciende rápida y notablemente porque se le ha privado del glucógeno fuente del monosacárido; en estas condiciones aparece el conocido cuadro del coma hipoglucémico, el cual desaparece previa administración de glucosa por vía venosa; quiere esto decir que la glucosa ordinaria, o sea, la que no resulta del proceso de glucogenólisis, puede ser aprovechada por el organismo mediante la intervención de la insulina; se puede pensar que no han de existir diferencias entre la glucosa procedente del glucógeno y la glucosa de las soluciones comunes del laboratorio, pero que ambas precisan de la hormona insular para ser aprovechadas.

La sangre normal, por lo tanto, se encontraría capacitada para desintegrar la glucosa ordinaria que le fuese añadida "in vitro", es decir, una vez extravasada.

Hemos estudiado muestras de sangre normal, evaluando la glucólisis a las seis horas y en una segunda muestra se ha evaluado también la glucólisis a las seis horas pero previa adición de un miligramo de glucosa por centímetro cúbico de sangre, o sea de 100 miligramos por ciento. (Cuadro 1.)

En el cuadro anterior se han anotado los siguientes datos: la glucólisis en sangres normales a las seis horas de extraídas, y en las mismas sangres la glucólisis a las seis horas pero con adición previa, en el momento de ser tomadas, de un miligramo de glucosa por centímetro cúbico o sea de 100 miligramos por cien. Aunque seguramente en ambas sangres no existen las mismas condiciones para la reac-

ción, hemos calculado la destrucción de la glucosa añadida, restando de la glucólisis total, la cifra indicadora de la glucólisis de la glucosa normal.

Se puede observar, que, en general, la glucosa añadida se destruye en cantidad superior a la propia de la sangre, a las experiencias anteriores se les puede hacer la objeción de que al añadir la pequeña cantidad de agua en que se encuentra disuelta la glucosa, las condiciones del medio cambian y el fenómeno de la glucólisis puede modificarse en el sentido de una mayor transformación de la glucosa propia de la sangre; sin embargo, en muchas determinaciones se ve que la glucólisis total es superior, en miligramos, a la cantidad de glucosa normal existente en la sangre estudiada.

Estas mismas determinaciones han sido practicadas en sangres diabéticas, para ver si en ellas se encuentra o no disminuido el poder glucolítico frente a la glucosa añadida.

Los resultados se expresan a continuación. (Cuadro 2.)

La glucosa añadida es destruida por la sangre diabética en cantidades variables, semejantes, inferiores o superiores a las que expresan la glucólisis de la glucosa normal, pero en todos los casos se mantiene determinada constancia en los resultados, lo que permite asegurar que, así como las sangres normales son capaces de desintegrar la glucosa añadida, también las diabéticas presentan la misma propiedad.

La glucosa desintegrada por la sangre extravasada se transforma seguramente en ácido láctico; para Evans existe relación entre la glucosa destruida y la cantidad de ácido láctico formado, quiere esto decir que el láctico representaría el término final de la glucólisis o, en otras palabras, solamente se efectuaría la fase anaerobia de la glucólisis, que como es bien sabido, se detiene en el mencionado ácido.

Hemos practicado una nueva serie de determinaciones con el fin de averiguar si la cantidad de ácido láctico formado después de glucólisis durante seis horas en sangres extravasadas, corresponde molecularmente a la cantidad de glucosa destruida.

Los resultados se exponen a continuación. (Cuadro 3.)

El cuadro anterior muestra que a medida que la glucosa se destruye, el ácido láctico sanguíneo aumenta, lo que comprueba que el azúcar de la sangre, en su desintegración, origina el mencionado ácido; en las determinaciones, sin embargo, el ácido láctico formado no corresponde molecularmente a la glucosa destruida, en cada caso la cantidad es menor, lo que debe interpretarse en el sentido de que

CUADRO N° 1

GLUCOLISIS EN SANGRES NORMALES

a las seis horas de extraídas y glucolisis a las seis horas previa adición de 100 miligramos de glucosa por ciento.

Muestras.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Miligramos de glucosa por cien.	85	69	84	84	112	77	94	95	106	83	72	107	116	87	99	104	72	102	84	97	82	88	73	93	88
Segunda determinación.	53	32	60	62	75	51	52	61	67	55	35	71	81	52	63	76	45	74	65	60	50	59	49	61	61
Glucolisis en Miligr.	32	36	24	22	37	26	42	34	39	28	37	36	35	35	36	28	27	26	19	37	32	29	24	32	27
Tanto por ciento.	38	52	29	26	33	34	44	35	36	34	51	34	30	40	36	27	37	25	23	38	35	33	33	34	30
Sangre con glucosa añadida.	185	169	184	184	212	177	194	195	206	183	172	207	216	187	199	204	172	202	184	197	182	188	173	193	188
Segunda determinación.	111	119	105	93	131	107	115	114	117	101	96	125	119	95	105	109	83	115	97	101	104	104	95	106	104
Glucolisis en Miligr.	74	50	79	91	81	70	79	81	89	82	76	82	97	92	94	95	89	87	84	96	78	74	78	87	74
Tanto por ciento.	40	30	43	50	38	54	40	42	43	45	44	40	46	50	47	47	51	43	45	49	43	39	45	45	39
Lisis de la glucosa añadida (Miligr.)	42	14	55	68	44	44	37	47	50	60	39	46	62	57	58	67	62	61	65	59	46	45	54	55	47

CUADRO N° 2

GLUCOLISIS EN SANGRES ANORMALES

a las seis horas de extraídas y glucolisis a las seis horas, previa adición de 100 miligramos de glucosa por ciento.

Muestras.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Miligramos de glucosa por cien.	220	135	148	137	215	182	155	180	144	240	153	162	142	139	178	176	209	283	180
Segunda determinación.	190	110	95	92	178	157	102	120	97	191	102	114	91	112	131	139	176	190	101
Glucolisis en mgs.	30	25	53	45	37	25	53	60	47	59	51	48	51	27	47	37	33	83	79
Tanto por ciento.	14	19	35	32	17	14	34	33	32	25	33	29	36	19	26	21	16	29	43
Sangre con glucosa añadida.	320	235	248	237	315	282	255	280	244	340	253	262	242	239	278	276	309	383	280
Segunda determinación.	260	165	157	161	249	212	163	213	159	278	171	182	154	168	202	178	243	256	140
Glucolisis en mgs.	60	70	91	76	66	70	92	67	85	62	82	80	88	71	76	98	66	127	140
Tanto por ciento.	19	30	37	32	21	25	36	24	37	18	32	31	36	30	38	35	22	33	50
Lisis de la glucosa añadida (mgs.)	30	45	38	31	29	45	41	38	3	31	32	32	37	44	31	61	33	44	61

CUADRO N° 3

VALORIZACION DEL ACIDO LACTICO SANGUINEO

en relación con la glucosa destruida a las seis horas.

Muestras.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Mgs. de glucosa por cien.	99	104	97	94	107	102	168	212	87	96	101	107	137	94	87	107	114	103	69	104	154	172
Mgs. de ácido láctico.	16	13	12	17	15	12	23	25	12	14	16	13	21	19	18	12	14	13	11	19	23	25
Mgs. de glucosa en la 2ª determinación.	72	77	52	68	72	70	140	188	50	68	72	82	103	68	48	80	86	77	69	79	121	150
Mgs. de ácido láctico en la 2ª valorización.	21	27	23	29	32	17	28	29	17	18	25	17	28	23	25	17	17	16	17	22	27	27
Mgs. de ácido láctico que debían encontrarse.	33	40	47	43	50	44	51	49	49	42	45	38	55	45	57	39	42	39	40	44	56	47
Mgs. de ácido láctico perdido.	12	13	24	14	18	27	23	20	32	24	20	21	27	22	32	22	25	23	23	22	29	20

el ácido láctico representa tan solo una fase intermedia y no el término final de la glucólisis. Seguramente que el láctico de la sangre extravasada se transforma en otras sustancias, muy posiblemente las mismas que aparecen en el curso del metabolismo intermediario de los glúcidos al aparecer la fase de transformación aerobia de los mismos.

RESUMEN

La glucólisis "in vitro" es evidente en las sangres normales y en las anormales; entre ambas no se pueden establecer diferencias por lo que a poder glucolítico se refiere. La glucólisis es tanto más notable cuanto más tiempo ha permanecido la sangre fuera del organismo. El fenómeno de la glucólisis "in vitro", de acuerdo con lo anterior, es originado por cimasas liberadas, seguramente, de los leucocitos, sin intervención de otros factores como deficiencias insulínicas, por el hecho de que en casos de hiperglicemias considerables (diabetes pancreáticos), no es posible afirmar que exista disminución del poder glucolítico.

La glucosa añadida a la sangre extravasada es capaz de desintegrarse en cantidad considerable, a veces superior a la de la glucosa propia destruida, tanto por las sangres normales como por las diabéticas.

La glucosa destruida "In vitro" se transforma en ácido láctico, pero el ácido originado no corresponde molecularmente a la glucosa desintegrada, por lo que se puede pensar que la transformación del azúcar no se detiene en el mencionado cuerpo, sino que continúa la fase aerobia, originándose, con toda probabilidad, las mismas sustancias que aparecen en el curso del metabolismo intermediario de los glúcidos.

Para terminar este artículo queremos mencionar los estudios realizados recientemente por S. Morgulis acerca del fenómeno de la glucólisis en relación con el glutatión: dice que Dudley descubrió la acción inhibitoria del ácido monoiodo sobre la mutasa que origina la transformación del metilglixal en ácido láctico, y que Lohman demostró que el glutatión reducido es la cocimasa de la metilglixalasa (mutasa), el ácido monoiodoacético impide la formación de ácido láctico porque destruye el glutatión reducido y la acción de la metilglixalasa no puede realizarse por falta del cofermento. Entre las conclu-

siones del autor se señala que durante el proceso de glucólisis existen en la sangre condiciones de oxi-reducción que ayudan a mantener el nivel del glutathion reducido, el cual tiende a desaparecer cuando no hay glucólisis, pasando a la forma oxidada GS-GS.

Los procedimientos empleados para las determinaciones efectuadas en este trabajo fueron, para la glucosa el de Creelius Seifert, y para el ácido láctico el de Mendel y Goldscheider.

BIBLIOGRAFIA

- DENIS W. and GILES U.—On Glicolysis in Diabetic and non Diabetic Blood. *Biol. Chem.* 1923.
- EVANS C. L.—Acid Production in Shed Blood. *J. Physiol.* 1922.
- MORGULIS S.—Glycolisis and Glutathione. *J. Of. Biol. Chem.* 1938.
- LEVENE P. A. and MEYER G. M.—The Action of Leucocytes on Glucosa. *J. Biol. Chem.* 1912.
- PETERS JHON P. and VAN SLYKE.—Cuantitative Chemical Chemistry.
- STEEL MATHEW.—Biological and Chemical Chemistry.
- TANNHAUSER.—Tratado de Metabolismo y Enfermedades de la Nutrición.
- WINTER L. B. and SMITH W.—On The Nature of Sugar in the Blood. *J. Physiol.* 1923.