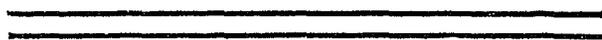


Lej 73

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS



Regulación del flujo sanguíneo y retención de glucosa por el encéfalo después de la estimulación de una zona reflexogénica insulino-sensible en ratas.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:

VERONICA GUARNER LANS

1 9 8 3



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 esta 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

INTRODUCCION	1
-Modelo de transporte de glucosa hacia el encéfalo.....	2
-Utilización de glucosa por el encéfalo.....	6
-Cambios en el metabolismo y transporte de glucosa hacia el encéfalo durante el desarrollo y maduración de los organismos.....	7
-La insulina como factor regulador del transporte y metabolismo de la glucosa por el encéfalo.....	9
-Mecanismo nervioso encargado de la homeostasis de la glucosa y su posible intervención en la regulación del transporte y utilización de este carbohidrato por el encéfalo.....	11
OBJETIVO.....	16
METODOLOGÍA	
-Protocolo experimental.....	17
-Animales y procedimientos quirúrgicos.....	18
-Procedimiento analítico.....	19
RESULTADOS	
-Efecto de la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco.....	22
-Efecto de la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco, en animales con vagotomía cervical.....	25
-Efecto de la inyección de insulina en la aorta abdominal después del tronco celiaco..	28
-Efecto de la inyección del vehículo de la insulina (agua destilada) en la aorta abdominal antes del tronco celiaco.....	32
DISCUSION.....	35
CONCLUSIONES.....	45
BIBLIOGRAFIA.....	46

INTRODUCCION

La glucosa es la fuente de energía de la que depende el cerebro en mayor grado para su funcionamiento normal; esta molécula es responsable del 98% del metabolismo oxidativo del encéfalo (Ruderman y Hartman, 1980) y es bien conocido que este órgano consume 5 g/h de la misma en el hombre (Inger y cols., 1978). Las posibilidades que tiene el cerebro de degradar otras moléculas energéticas son limitadas y entre ellas se pueden mencionar los cuerpos cetónicos y el lactato, que son utilizados como sustrato en algunas circunstancias extremas como por ejemplo durante los ayunos prolongados. Las reservas de glicógeno son las que cuentan las neuronas, tampoco son abundantes, entre 3 y 4 $\mu\text{mol/g}$ y sólo sirven para mantener la respiración celular algunos minutos cuando existe deficiencia de glucosa en el encéfalo; una insuficiencia más prolongada en el abastecimiento de este carbohidrato produce daños irreversibles en las neuronas. Al tener en cuenta que la tasa metabólica del cerebro es la más alta de todos los órganos, excluyendo a los músculos durante un período de ejercicio severo, resulta clara la importancia que tiene conocer los mecanismos de transporte y utilización de la glucosa y los factores que los regulan.

El proceso de transporte por el cual la glucosa penetra al encéfalo ha sido ampliamente estudiado y descrito (Lund-Andersen, 1979); sin embargo, los factores que lo regulan así como sus mecanismos de acción aún no se conocen. Se sabe por ejemplo que la insulina causa un incremento en la retención de glucosa por este órgano y que aumenta las vías metabólicas de la síntesis de glicógeno y aminoácidos (Daniel y cols., 1977); no obstante, la manera como esta hormona logra su efecto no resulta clara. La concentración de insulina que se ha podido detectar en el encéfalo es muy pequeña en comparación

con la enorme cantidad de glucosa que el cerebro utiliza, para poder pensar en una acción directa de esta proteína sobre las células nerviosas (Margolis y Altzuler, 1967). La influencia que la insulina podría ejercer a través de su unión con receptores en las membranas de las células endoteliales de la barrera hematoencefálica, causando cambios en la permeabilidad, no se ha logrado comprobar (Lautala y Martin, 1981; Goodner y cols., 1980). Tampoco se ha encontrado alguna relación entre los cambios en la retención de glucosa por el cerebro y las modificaciones en la composición de la sangre que suceden como consecuencia de un incremento en la insulina circulante (Daniel y cols., 1977).

En el presente trabajo se estudia en ratas el mecanismo de acción de la insulina como factor regulador de la utilización de glucosa por el encéfalo, a través de la estimulación de terminaciones nerviosas sensibles a esta proteína, las cuales envían señales al cerebro por medio del nervio neumogástrico y se localizan en la región irrigada por la arteria pancreático-duodenal. Esta región se ha descrito como parte de las vías aferentes del mecanismo nervioso encargado de la homeostasis de la glucosa en perros, gatos y conejos (Alvarez-Buylla, 1973; Alvarez-Buylla y cols., 1961, 1975, 1981b).

Modelo de transporte de glucosa hacia el encéfalo.

La glucosa, para penetrar al cerebro, debe cruzar la barrera hematoencefálica que está constituida por las células endoteliales de las paredes capilares. Estas células se comunican entre sí mediante uniones fuertes denominadas zonulae occludens, que no permiten el paso de la glucosa a través de ellas. Por esta razón, el transporte es transcelular, implicando el paso por las dos membranas de los endotelios capilares.

Dos procesos están involucrados en el transporte de la glucosa desde el torrente sanguíneo hasta el cerebro: uno de difusión simple que contribuye con el 3 al 5% de la glucosa que entra a este órgano, y un mecanismo de difusión facilitada que resulta el más importante, y en el cual participa una molécula acarreadora (Crone, 1965; Yudelevich y de Rose, 1971). El flujo de glucosa hacia el encéfalo, aunque depende de la concentración de este carbohidrato en la sangre arterial, es un proceso saturable que no sigue la ley de Fick; y al parecer puede alterarse si se varían las cantidades de otras moléculas que son capaces de competir por el acarreador con la glucosa (Oldendorff, 1971).

Debido a las características anteriores se afirma que el proceso de difusión facilitada exhibe una cinética de Michaelis-Menten, y sus constantes han sido determinadas por diferentes métodos. Los más precisos son aquellos en que se mantiene constante la concentración de glucosa sanguínea durante un período prolongado de tiempo, de manera que se logra un equilibrio en el cual las dos membranas de los endotelios capilares pueden considerarse como una sola y las constantes corresponden al promedio de ambas membranas (Bachelard y cols., 1972; Lund-Andersen, 1979).

Debido a la dependencia que tiene el flujo de glucosa hacia el cerebro de la concentración de este carbohidrato en la sangre arterial, existen mecanismos homeostáticos en ésta para mantener constante el nivel de dicho sustrato. Los eritrocitos podrían jugar un papel importante en este control, al absorber o liberar glucosa dependiendo de su concentración en el interior de estas células y de su nivel en el plasma (Le Febre, 1948). El flujo sanguíneo también puede modificar la cantidad de azúcar que llega al encéfalo (Betz y cols., 1973) y se sabe que depende en forma general de la presión arterial y del gasto cardiaco y de forma más particular del tono cerebrovascular,

que cambia al modificarse la concentración de los gases y azúcar disueltos en la sangre. La inervación que reciben los vasos de la base del encéfalo no parece jugar un papel importante en la regulación total del flujo sanguíneo cerebral, aunque interviene modificando la distribución de la sangre a las diferentes regiones encefálicas (Shenkin y Novak, 1961). Es importante mencionar que la trascendencia que pudiera tener el líquido cefalorraquídeo en proporcionar nutrientes al cerebro ha sido descartada en diferentes trabajos (Wolff y Tschirgi, 1956).

Como se observa en la FIGURA 1, parte de la glucosa que penetra al cerebro regresa a la circulación por un proceso de contraflujo (Buschiazzo y cols., 1970). La magnitud de este movimiento depende de la concentración de glucosa en la sangre arterial (Cutler y Sipe, 1971) y de la cantidad que de esta molécula utiliza el encéfalo. Cabe señalar que la vida media de la glucosa antes de ser fosforilada en este órgano es de alrededor de 1.4 minutos (Savaki y cols., 1980).

La existencia de un mecanismo de contraflujo explica el hecho de que los valores reportados de glucosa utilizada por el cerebro sean menores que los de la cantidad de este carbohidrato que entra a dicho órgano (Hawkins y cols., 1974; Sokoloff y cols., 1977). El limitante más importante de la utilización de glucosa por el encéfalo es el transporte, excepto en los casos de hiperglicemia severa en los que la velocidad de este proceso dependerá de la actividad de la hexocinasa (Crane y cols., 1981).

No se han encontrado diferencias claras en los mecanismos de transporte de las membranas de las neuronas y de las células de la neuroglia. Por ello, el modelo anterior las considera como una población homogénea, admitiendo que el cerebro es un órgano complejo y heterogéneo con muchos y distintos componentes anatómicos y funcionales. Los trabajos con metodologías sensibles muestran por ejemplo que la sustancia gris absor-

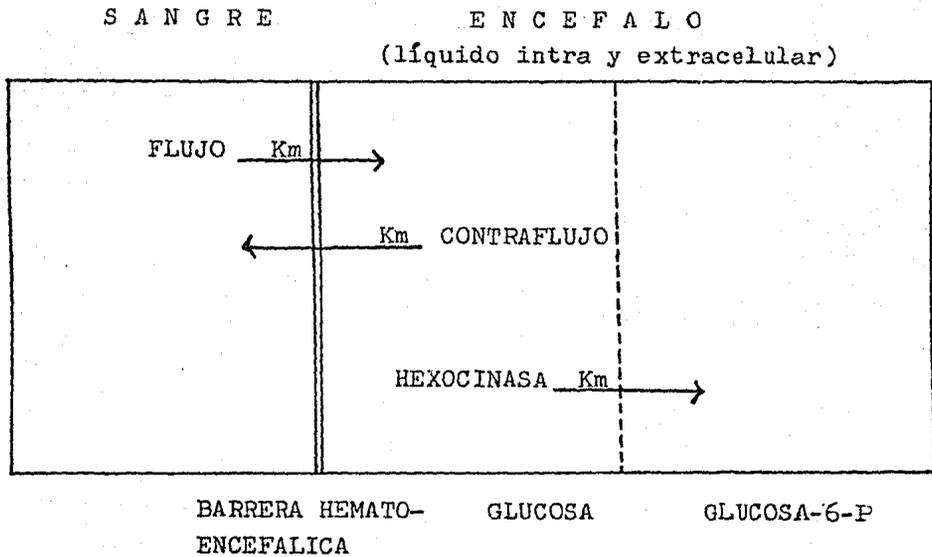


FIGURA 1 Modelo de transporte y utilización de la glucosa por el encéfalo.
Km= constante de Michaelis-Menten para las reacciones enzimáticas y para el proceso de difusión facilitada.
La línea punteada representa una barrera funcional.
(Lund-Andersen, 1979).

be más glucosa que la blanca y que las tasas de consumo de glucosa dentro de una misma estructura varían, revelando la arquitectura citológica de la misma (Sokoloff y cols., 1977). También es muy heterogéneo el nivel de actividad de distintas células de la misma región, siendo claro que las estructuras activas presentan un mayor consumo de glucosa y oxígeno para reponer la energía que están gastando (Sokoloff, 1981). Otros trabajos han demostrado que algunos componentes del encéfalo como el tálamo y el cerebelo son más resistentes a la hipoglicemia (Grayson y Mendel, 1960; Ratcheson y cols., 1981). Algunos experimentos permiten advertir que las vías metabólicas que se modifican ante una baja en la concentración de glucosa no son las mismas en las diferentes estructuras, o que éstas no se encuentran alteradas en igual grado (McCandless, 1981). Por otra parte, se sabe que los astrocitos poseen una función amortiguadora de los cambios en el suministro de glucosa a las neuronas.

Utilización de glucosa por el encéfalo.

El primer paso de la oxidación de la glucosa en el cerebro es la fosforilación que lleva a cabo la hexocinasa. Bajo la acción de esta enzima, la glucosa se transforma en glucosa-6-P que puede entrar a diversas vías metabólicas en el encéfalo: una pequeña fracción es convertida en glicógeno, otra entra en la ruta de las pentosas, y la mayor proporción pasa a la vía glicolítica.

Parte del piruvato formado durante la glicólisis es descarboxilado por la enzima piruvato descarboxilasa para dar lugar a la Acetil Co.A. Esta molécula, predominantemente se metaboliza en el ciclo del ácido cítrico aunque una pequeña fracción se utiliza en procesos sintéticos como el de la acetilcolina. Un porcentaje significativo del piruvato resulta carboxilado para formar oxaloacetato, reacción que es muy importante pues a partir de éste se reponen las moléculas interme-

diarias del ciclo de Krebs que se utilizan para la síntesis de aminoácidos y neurotransmisores. Los electrones resultantes de la glicólisis y del ciclo del ácido cítrico entran a la cadena respiratoria para la formación del ATP; molécula que proporciona su energía para el mantenimiento de la actividad neuronal y de las células de la neuroglia al igual que para el transporte axónico (Ruderman y Goodman, 1980). Las principales vías metabólicas del encéfalo se ilustran en la FIGURA 2.

Si se inyecta glucosa marcada al cerebro de ratas, ésta permanece dentro del órgano durante aproximadamente 30 minutos; a los 2 minutos el 40% de la glucosa habrá sido utilizada para la síntesis de aminoácidos (Vrba, 1962). Estos datos indican la importancia que tiene la síntesis de estas moléculas para el cerebro (Cooper y cols., 1978).

Cambios en el metabolismo y transporte de glucosa hacia el encéfalo durante el desarrollo y maduración de los organismos.

Las magnitudes del flujo y del contraflujo de glucosa, al igual que las proporciones de esta molécula que entran a cada vía metabólica, no son constantes durante el desarrollo y maduración de los organismos. En ratas recién nacidas se ha observado que la cantidad de glucosa que llega al encéfalo es baja, a pesar de que la constante de afinidad del acarreador por esta molécula es normal. Por otra parte, el valor del contraflujo también es menor en las ratas lactantes que en las adultas. Esto provoca que en los organismos recién nacidos el margen de seguridad ante la hipoglicemia sea bajo. Se piensa que el efecto de una disminución en la concentración de glucosa sanguínea, podría ser compensado por un aumento en el metabolismo de cuerpos cetónicos, los cuales se encuentran en una concentración elevada en estos organismos. En las ratas viejas también se ha descrito un valor inferior de flujo

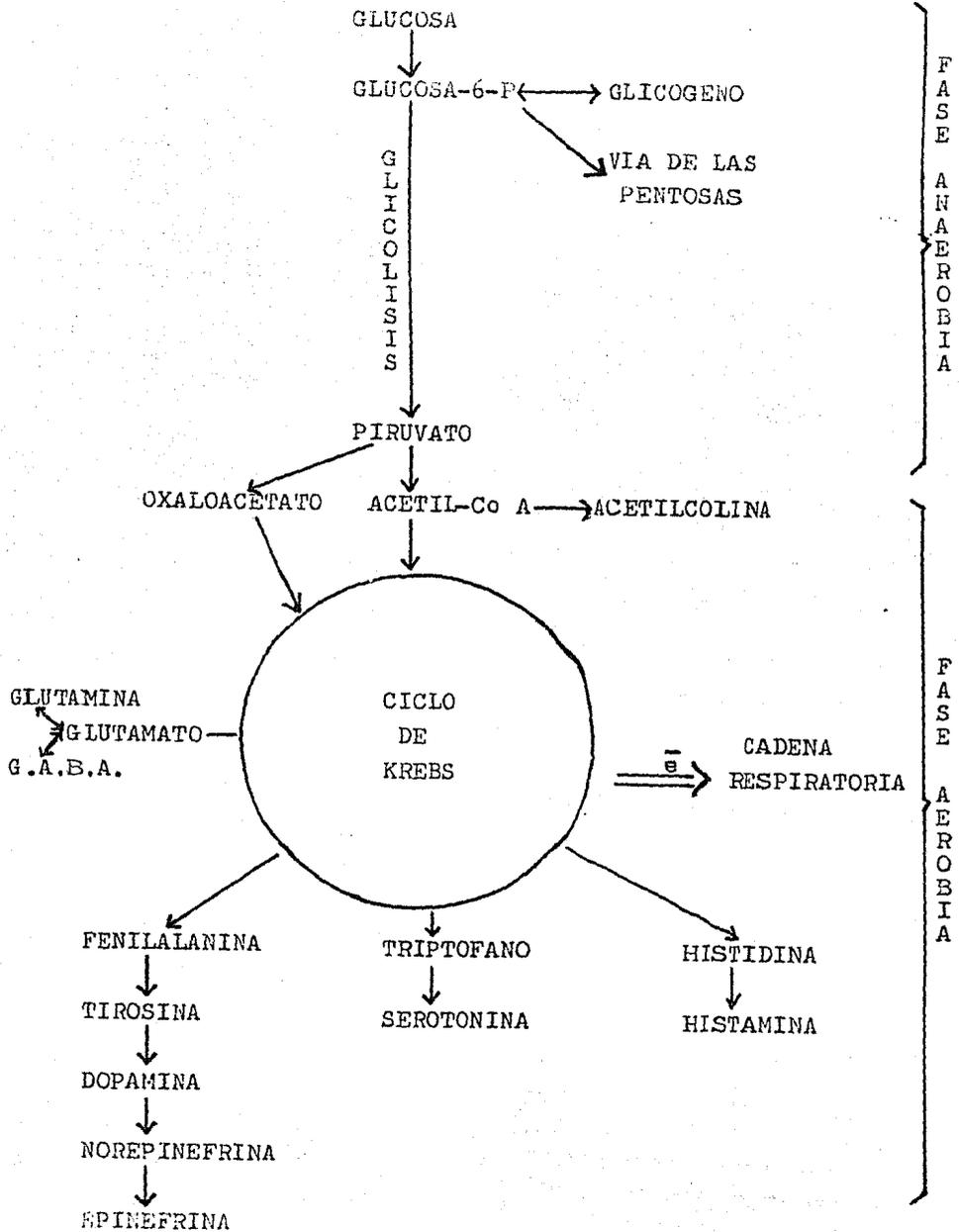


FIGURA 2 Principales vías metabólicas a las que entra la glucosa en el encéfalo

y contraflujo de glucosa con respecto a las adultas, pero en ellas el mecanismo compensatorio que proporcionan los cuerpos cetónicos no se encuentra presente; por ello se dice que los organismos viejos son más débiles ante la hipoglicemia (Daniel y cols., 1978).

Las proporciones de glucosa que entran a la vía glicolítica, ciclo de Krebs y síntesis del ácido yamino butírico, se incrementan durante el desarrollo, en tanto que, el porcentaje que pasa a través de la ruta de las pentosas disminuye considerablemente (Hothersall y cols., 1979). La tasa de utilización de ATP por gramo de tejido encefálico aumenta durante el desarrollo y maduración de los organismos (Samson y cols., 1960).

Se pensaba que los cambios en las tasas metabólicas cerebrales siempre iban acompañados por alteraciones en el flujo sanguíneo; sin embargo, en un trabajo reciente (Rappaport y cols., 1981), se reporta que durante el transcurso de la vida se observan alteraciones en las tasas metabólicas cerebrales que no van acompañadas por modificaciones paralelas en el flujo sanguíneo. Estos autores proponen que el flujo sanguíneo se modifica como respuesta a algún producto metabólico que no aparece en ciertas etapas del desarrollo o que se encuentra en concentraciones muy bajas durante ellas.

La insulina como factor regulador del transporte y metabolismo de la glucosa por el encéfalo.

La insulina fue descubierta por Banting y Best quienes lograron extraer el principio activo del páncreas capaz de modificar la glicemia y demostraron su efecto terapéutico en sujetos diabéticos (Banting y Best, 1922). Experimentos anteriores como los que habían realizado von Mering y Minkowsky (1889) sugerían la presencia de una molécula en el páncreas

con la facultad de producir hipoglicemia. Estos últimos autores describieron que en animales pancreatectomizados se presentaban alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos similares a las que ocurrían en pacientes diabéticos; sin embargo, no lograron aislar la molécula responsable de las modificaciones.

La insulina es una proteína con un peso molecular de 6000 formada por dos cadenas de aminoácidos unidas por puentes disulfuro. Las células B de los islotes de Langerhans son las encargadas de secretar esta hormona que es sintetizada a partir de una molécula precursora llamada proinsulina, la cual es transformada en insulina a través de la remoción proteolítica de una región de aminoácidos. La secreción de insulina se encuentra regulada tanto por mecanismos gastrointestinales como autónomos y se sabe que es un proceso bifásico. La insulina circula en la sangre y linfa como una hormona libre hasta llegar a las células blanco sobre las que actúa. Los efectos de esta proteína se producen a través de su unión con receptores en las membranas celulares desencadenando la producción de un mensajero intracelular (GMPc) y consisten en la inhibición de la glicogenolisis y lipolisis y la estimulación del transporte de glucosa, aminoácidos, K^+ y Mg^{++} hacia el interior de las células así como un incremento en la síntesis de proteínas.

En el encéfalo se ha visto que la insulina provoca un aumento en la retención de glucosa incrementando la síntesis de glicógeno y aminoácidos (Daniel y cols., 1977); no obstante, el mecanismo de acción por el cual la insulina causa estos cambios no se conoce. Se ha reportado que esta hormona no pasa la barrera hematoencefálica en cantidades suficientes para desencadenar las alteraciones mencionadas (Margolis y Altzuler, 1976). Aunque la insulina es capaz de unirse con receptores en los endotelios capilares cerebrales (Havrancova,

1978) no se han logrado asociar los efectos anteriores con la interacción de esta hormona y su receptor (Goodner y cols., 1977; Lautala y Martin., 1981). Se han estudiado otros posibles mecanismos de acción para la insulina pero los resultados no han sido satisfactorios (Daniel y cols., 1975,1977). La posibilidad de que la insulina tenga una acción refleja que provoque los cambios antes descritos será estudiada en este trabajo.

Mecanismo nervioso encargado de la homeostasis de la glucosa y su posible intervención en la regulación del transporte y utilización de este carbohidrato por el encéfalo.

Los procesos que mantienen la concentración de la glucosa sanguínea sin variaciones bruscas en los organismos, son muy complejos; se encuentran involucrados en esta regulación tanto componentes nerviosos como endócrinos. La acción de las hormonas respecto a este problema fisiológico ha sido estudiada, aunque faltan por conocerse numerosos detalles. La influencia del sistema nervioso está deficientemente aclarada a pesar de que se han hecho intentos por conocerla a partir de los trabajos de Claude Bernard hace más de un siglo (Bernard, 1857). Este autor encontró que una punción en el piso del cuarto ventrículo, producía un aumento de glucosa en la orina como consecuencia de un incremento en la concentración de este carbohidrato en la sangre. Concluyó que la región encefálica conocida como Puente de Varolio, controlaba el nivel de azúcar en la sangre y que la movilización de glucosa observada en sus experimentos se debía a la estimulación de esta región.

A partir del trabajo de Claude Bernard se ha estudiado la inervación de los órganos que intervienen en la homeostasis de la glucosa y la manera como ésta influye sobre la secreción e interrelaciones de varias hormonas (Woods y Porte, 1974;

Merich y cols., 1977; Unger y cols., 1978). También se han buscado cambios en la glicemia como respuesta a la estimulación eléctrica de ciertas regiones del encéfalo (Frohman y Bernardis, 1971) o a la infusión directa de glucosa e insulina a este órgano (Chen y cols., 1975; Chieri y cols., 1975; Agarwala y cols., 1977). Por otra parte se han buscado los efectos de extractos de la hipófisis y del hipotálamo sobre la secreción y actividad de ciertas hormonas (Houssay y cols., 1924, 1931; Martin y cols., 1973).

Las investigaciones de Alvarez-Buylla (1973) y Alvarez-Buylla y colaboradores (1961, 1975, 1981b) proponen que el sistema nervioso juega un papel importante en la homeostasis de la glucosa y que dicho papel no sólo consiste en dar respuesta a los cambios en la glicemia, sino también en recoger información acerca de los niveles de glucosa en el organismo. En uno de sus trabajos (1981b) demuestra que la insulina tiene acción refleja; el componente aferente de este reflejo se encuentra formado por una zona sensible a esta proteína localizada en la región que irriga la arteria pancreático-duodenal y que envía señales a través del nervio neumogástrico o vago. Este par craneal posee tanto fibras sensitivas como motoras pertenecientes al parasimpático, que influyen en actividades vitales como la circulatoria, la respiratoria y la digestiva. El origen superficial del vago es el hueco que forman la pirámide y la oliva en el bulbo raquídeo y su origen profundo es a partir de los núcleos: ambiguo, motor dorsal del vago, solitario y núcleo del tracto espinal del nervio trigémino. El vago se extiende a lo largo del cuello y tórax hasta el abdomen. Emerge del cráneo por el foramen yugular y desciende por el cuello junto con la arteria carótida, dando un número variable de ramas cervicales. Al llegar al tórax cada uno de los vagos origina una rama recurrente, la cual inerva a la tráquea y laringe. En esta misma región el nervio neumogástrico contribuye a formar los plexos pulmonares y cardiaco. Continúa con el esófago formando el plexo esofágico. A partir

de este plexo se originan los troncos anterior y posterior que contienen fibras tanto del neumogástrico derecho como del izquierdo. Ambos troncos vagales pasan al abdomen atravesando el diafragma por el mismo orificio que el esófago y se ramifican dando lugar a fibras hepáticas, gástricas y celiacas. Las ramas del neumogástrico que pasan a formar parte del plexo celiaco se distribuyen al estómago, páncreas, hígado y a los intestinos delgado y grueso (Gardner y cols., 1975; Gray, 1977).

Además de la zona insulino-sensible localizada en la región irrigada por la arteria pancreático-duodenal e inervada por el nervio vago, se han descrito otras regiones que podrían actuar como parte de la vía aferente del mecanismo nervioso encargado de la homeostasis de la glucosa. Entre ellas se pueden mencionar los senos carotídeos y aórtico que cambian su actividad quimiorreceptora cuando se modifica la glicemia (Alvarez-Buylla, 1981a) y receptores en el sistema nervioso central (Szabo y Szabo, 1972, 1975a y b; Kotlyar, 1971).

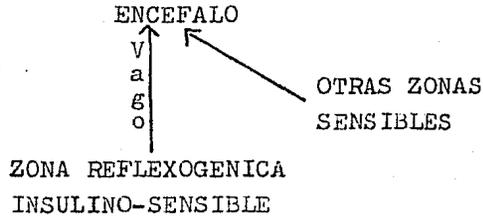
El componente efector del mecanismo nervioso que controla el nivel de azúcar en la sangre ha sido estudiado más ampliamente que el componente aferente y consta de varios elementos. El páncreas, profusamente inervado por el vago (Libman y Sutherland, 1965; Richins, 1945) causa hiperglicemia a través de la secreción de glucagon, o bien secreta insulina produciendo hipoglicemia. La médula suprarrenal inervada por los nervios esplácnicos, secreta adrenalina y causa hiperglicemia por glicogenolisis hepática inhibiendo la secreción de insulina (Frohman y Bernardis, 1971). La secreción de insulina se incrementa cuando se estimula el nervio vago (Frohman y Ezdinli, 1967; Kaneto y cols., 1967; Bergamn y Miller, 1973), o por la secreción a la circulación de un factor hipotalámico (Frohman y Bernardis, 1971; Martin y cols., 1973; Porte y cols., 1975; Brower y cols., 1932). La respuesta hipoglicemiante podría deberse también a la secreción de un neuropéptido que actuaría con un tiempo de latencia menor al de la insulina (Alvarez-

Buylla y Alvarez-Buylla, 1975; Szabo y Szabo, 1975). Se ha logrado aislar una molécula hipoglicemiante de extractos de la pituitaria anterior (Huggins y Ottaway, 1960). FIGURA 3

El hecho de que se pueda lograr un reflejo condicionado hipoglicemiante asociando en el tiempo la inyección de insulina intravenosa con una señal externa como el sonido ligero de un timbre, constituye una prueba directa de que en los organismos existen reflejos que intervienen en la homeostasis de la glucosa (Alvarez-Buylla, 1973; Alvarez-Buylla y cols., 1960, 1961, 1975; Woods y cols., 1970, 1972b). El reflejo desaparece en animales con vagotomía abdominal, lo que indica la participación del nervio neumogástrico como vía aferente del mecanismo nervioso importante en la homeostasis de la glucosa (Alvarez-Buylla, 1973; Alvarez-Buylla y cols., 1960, 1961, 1975) o bien como componente efector (Woods y cols., 1972b). El efecto hipoglicemiante del estímulo condicionado no desaparece después de la pancreatectomía (Alvarez-Buylla y Carrasco-Zanini, 1960) por lo que se concluye que es independiente de la insulina pancreática además de que el tiempo de latencia de la respuesta condicionada es menor que el tiempo que tarda en actuar esta hormona (Alvarez-Buylla y Carrasco-Zanini, 1960; Alvarez-Buylla y Alvarez-Buylla, 1975).

Si existen en los organismos receptores que informan al encéfalo del estado de la glicemia, cabe la posibilidad de que estas mismas señales indiquen al cerebro de la cantidad de glucosa que debe retener. La insulina podría actuar como factor regulador de la utilización de glucosa por el encéfalo, al estimular una zona reflexogénica insulino-sensible, inervada por el nervio neumogástrico e irrigada por la arteria pancreático-duodenal.

V I A A F E R E N T E



V I A E F E R E N T E

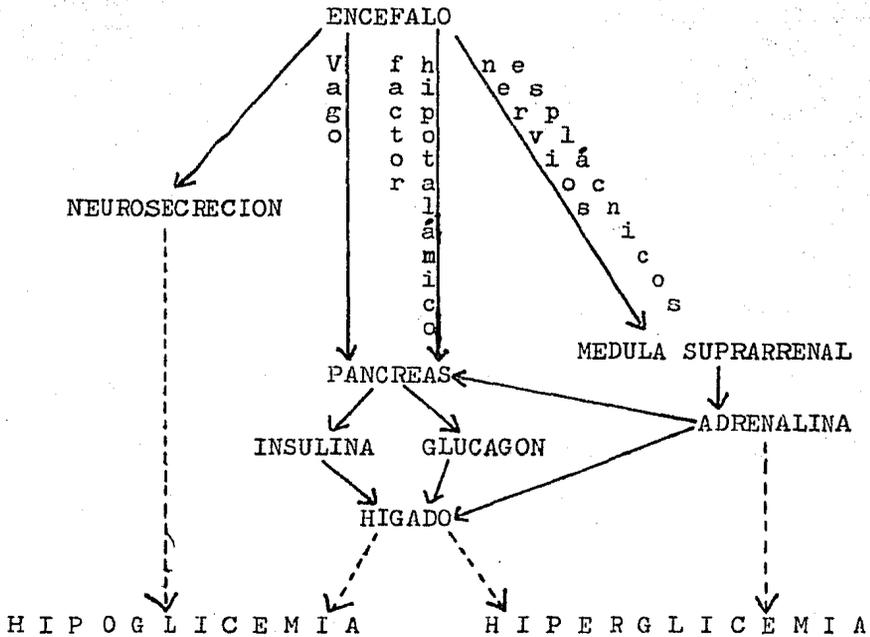


FIGURA 3 Reflejo encargado de la homeostasis de la glucosa

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo es estudiar los cambios en la cantidad de glucosa que es retenida por el encéfalo, al estimular la zona reflexogénica insulino-sensible localizada en la región que irriga la arteria pancreático-duodenal, mediante la inyección de una microdosis de insulina. Se analizarán los cambios en el flujo de glucosa hacia el cerebro y las modificaciones del contraflujo, con objeto de ver cuales son las responsables del cambio en la retención de glucosa. Se estudiará el tiempo de latencia de la respuesta para tratar de determinar el mecanismo que la provoca.

Si se presentan cambios en la cantidad de glucosa que es retenida por el cerebro, después de inyectar la microdosis de insulina, es probable que esta proteína actúe como factor regulador de la retención de glucosa por el encéfalo, al estimular receptores específicos en la región irrigada por la arteria pancreático-duodenal e inervada por el nervio neumogástrico.

METODOLOGIA

Protocolo experimental.

Las ratas fueron sujetas a cuatro tipos de intervenciones experimentales:

1) En 11 animales se estimuló la zona reflexogénica insulino-sensible, que es una vía aferente del mecanismo nervioso importante en la homeostasis de la glucosa, mediante la inyección de una microdosis de insulina (50 mU en 0.2 ml de agua destilada), en la aorta abdominal antes del tronco celiaco, una de cuyas ramas es la arteria pancreático-duodenal. Se utilizó una microdosis de insulina para demostrar que la zona reflexogénica no requiere grandes cambios en la concentración de esta proteína para ser estimulada.

2) En los mismos animales de la intervención 1, después de 30 minutos de recuperación, se realizó la vagotomía cervical y se repitió la estimulación de la zona reflexogénica insulino-sensible de igual forma que en la intervención 1.

3) En 6 animales se inyectó la insulina en la aorta abdominal aproximadamente 2.5 cm después del tronco celiaco, de manera que ésta no tenía acceso directo a la zona reflexogénica insulino-sensible.

4) En 6 ocasiones se inyectó el vehículo de la insulina, agua destilada, en la aorta abdominal antes del tronco celiaco.

Las intervenciones 3 y 4 se realizaron en un grupo independiente de animales en condiciones experimentales similares a las utilizadas en 1 y 2 y sirvieron como controles para comparar los resultados obtenidos.

Animales y procedimientos quirúrgicos.

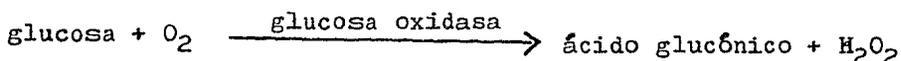
Se utilizaron para el estudio ratas Wistar de ambos sexos que pesaban entre 150 y 250 g. Las ratas presentan la ventaja de que se pueden criar en condiciones homogéneas en el bioterio, evitando en cierto grado la variabilidad en el lote de animales. Los organismos se mantuvieron en ayuno durante 18 a 24 horas antes de la intervención quirúrgica.

La anestesia se indujo mediante una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (Anestosal, Smith Kline) en dosis de 3 mg/100 g de peso del animal y se mantuvo con infusión intraperitoneal de 0.075 mg de anestosal/min. Los animales fueron sujetos a intubación endotraqueal, manteniéndose la ventilación mediante bomba de respiración artificial con el volumen minuto mínimo para eliminar los movimientos respiratorios.

Se insertaron catéteres de polietileno (Clay Adams) llenos con una solución de heparina sódica (Reparina, Lab. Reforma, 5,000 U/ml) en la vena yugular y en la arteria carótida; a través de ellos se tomaron las muestras de sangre. El catéter de la arteria carótida era introducido hasta distintos niveles de la aorta abdominal para inyectar la microdosis de insulina (Insulina simple, Lilly S.P.) a razón de 50 mU en 0.2 ml de agua destilada. En los animales en los cuales se realizó vagotomía, ésta fue a nivel cervical. Al terminar cada experimento se verificó mediante autopsia la posición de los catéteres y se extrajo el encéfalo para pesarlo.

Procedimiento analítico.

La concentración de glucosa en la sangre arterial y venosa se determinó por el método de la enzima glucosa oxidasa con ayuda de las tiras reactivas Dextrostix (Ames), leídas con un colorímetro de reflectancia que emite luz a 660 nm (Ames Reflectance Meter). La reacción que se lleva a cabo en estas tiras es la siguiente:



Las tiras reactivas contienen una peroxidasa que rompe la molécula del peróxido de hidrógeno y un sistema cromógeno indicador que desarrolla colores que van desde el gris claro hasta el azul oscuro al reaccionar con el producto de la reacción. Los resultados que proporciona este método han sido comparados con los obtenidos al utilizar otras técnicas y se sabe que son confiables aunque se puede obtener mayor precisión con otras metodologías (Tomkin y Moore, 1977). En este laboratorio se han comparado los resultados que se obtienen mediante este método con los que proporciona la técnica de medir el consumo de oxígeno a través de un electrodo, cuando ocurre esta misma reacción (Beckman Glucose Analyzer 2), obteniendo diferencias no significativas en las determinaciones. Las muestras de sangre que se leyeron en el experimento fueron tomadas después de drenar 5 ó 6 gotas por el catéter para limpiarlo de la heparina que contenía.

El flujo de sangre encefálica por unidad de tiempo se midió por el goteo en el catéter colocado en la vena yugular, con la yugular del lado opuesto ligada y el valor que se obtuvo fue convertido a ml/g de encéfalo por minuto.

Se realizaron dos determinaciones basales de la concentración de glucosa en la sangre arterial y venosa con un interva-

lo de 3 minutos entre ellas y se repitieron los análisis a los minutos: 1, 3 y 9 después de estimular la zona reflexogénica insulino-sensible. El flujo sanguíneo cerebral se midió antes del estímulo y 4 minutos después de éste.

La cantidad de glucosa retenida por el encéfalo (G) se calculó mediante la fórmula:

$$G = (sA - sV) f$$

donde:

sA = concentración de glucosa en la sangre arterial (mg/ml)

sV = concentración de glucosa en la sangre venosa (mg/ml)

f = flujo sanguíneo cerebral (ml/g min)

(Daniel y cols., 1975a)

El flujo de glucosa hacia el cerebro (F) se obtuvo con la siguiente expresión:

$$F = V \frac{sA}{sA + K_m}$$

donde:

sA = concentración de glucosa en la sangre arterial (mg/ml)

V = 1.24 μ M/ml = velocidad máxima del transporte de la glucosa hacia el encéfalo

K_m = 4.9 μ M/ml = constante de Michaelis-Menten para el transporte de glucosa hacia el encéfalo

(Bachelard y cols., 1972, 1973)

El contraflujo (C) se calculó por diferencia entre el flujo de la glucosa hacia el cerebro (F) y el valor de la glucosa retenida (G).

$$C = F - G$$

El coeficiente de absorción de la glucosa arterial por el encéfalo (A) se calculó mediante la fórmula:

$$A = \frac{G}{SA}$$

(Daniel y cols., 1975a)

Los valores se expresaron como diferencias con respecto al promedio de las basales y se representan en gráficas donde se ilustra la media obtenida para cada punto experimental y su error standard. Las diferencias estadísticas entre la media de las basales y los puntos experimentales se analizaron utilizando la prueba de "t" de Student (Snedecor y Cochran, 1980). Los valores absolutos obtenidos para las variables fisiológicas medidas se reportan en una tabla.

RESULTADOS

Los valores basales medios de las variables fisiológicas estudiadas se registran en la TABLA I junto con las magnitudes de estas mismas variables reportadas con anterioridad y que fueron medidas por otros autores con diferentes metodologías a las empleadas en este trabajo. Resulta importante tener en mente estos valores al analizar las gráficas que a continuación se presentarán, pues en ellas se expresan las diferencias con respecto al promedio de las basales de las variables medidas, considerado como 0. El hecho de que una variable experimente una disminución menos pronunciada que otra en las gráficas, no implica necesariamente que su valor real sea mayor que el de la segunda, aunque la representación dé esa impresión.

Efecto de la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco.

La estimulación de la vía aferente del reflejo insulínico en ratas, mediante la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco, produjo una elevación pequeña en la concentración de glucosa en la sangre arterial, con recuperación del nivel basal a los 3 minutos, observándose posteriormente un descenso hasta el minuto 9 ($p < .01$). La concentración de glucosa en la sangre venosa bajó bruscamente durante los 3 primeros minutos después de la inyección de insulina ($p < .05$) y continuó disminuyendo hasta los 9 minutos ($p < .001$). FIGURA 4A. Estos cambios en los niveles de glucosa dan como resultado un aumento significativo en la diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa al minuto 1 ($p < .001$), para recuperarse al minuto 9.

FIGURA 4B. El flujo sanguíneo cerebral experimentó un aumento de aproximadamente 10% después de la aplicación del estímulo ($p < .01$). FIGURA 4C.

VARIABLE	VALOR OBSERVADO ($\bar{X} \pm DS$) n = 11		VALOR REPORTADO DO ($\bar{X} \pm DS$)	REFERENCIA
	antes de la vagotomía	después de la vagotomía		
CONCENTRACION DE GLUCOSA EN SANGRE ARTERIAL (mg/dl)	116.46 \pm 33.5	78.92 \pm 47.16		
CONCENTRACION DE GLUCOSA EN SANGRE VENOSA (mg/dl)	94.95 \pm 29.63	59.02 \pm 45.03		
DIFERENCIA ARTERIO-VENOSA DE LA CONCENTRACION DE GLUCOSA (mg/dl)	21.55 \pm 7.22	20.17 \pm 12.16		
FLUJO SANGUINEO CEREBRAL (ml/g min)	0.111 \pm 0.022	0.0992 \pm 0.0235	0.48 1.29 1.119 0.55	Sapirstein, 1958 Gjedde, 1980 Meis, 1981 Caster, 1956
% DEL PESO CEREBRAL RES- PECTO AL PESO CORPORAL	0.94 \pm 0.0967	_____		
FLUJO DE GLUCOSA HACIA EL ENCÉFALO (μ mol/g min)	0.676 \pm 0.083	0.542 \pm 0.1741	0.97 \pm 0.285	Daniel, 1977
CONTRAFLUJO (μ mol/g min)	0.5577 \pm 0.075	0.4299 \pm 0.156	0.639 \pm 0.29	Daniel, 1977
GLUCOSA RETENIDA (μ mol/g min)	0.1354 \pm 0.061	0.1125 \pm 0.065	0.29 0.28	Daniel, 1977 Hawkins, 1974
COEFICIENTE DE ABSORCION (ml/g min)	0.0213 \pm 0.009	0.0298 \pm 0.015	0.045 \pm 0.022	Daniel, 1975a

TABLA 1 Valores basales medios de las variables fisiológicas medidas en este trabajo y valores previamente reportados de las mismas.

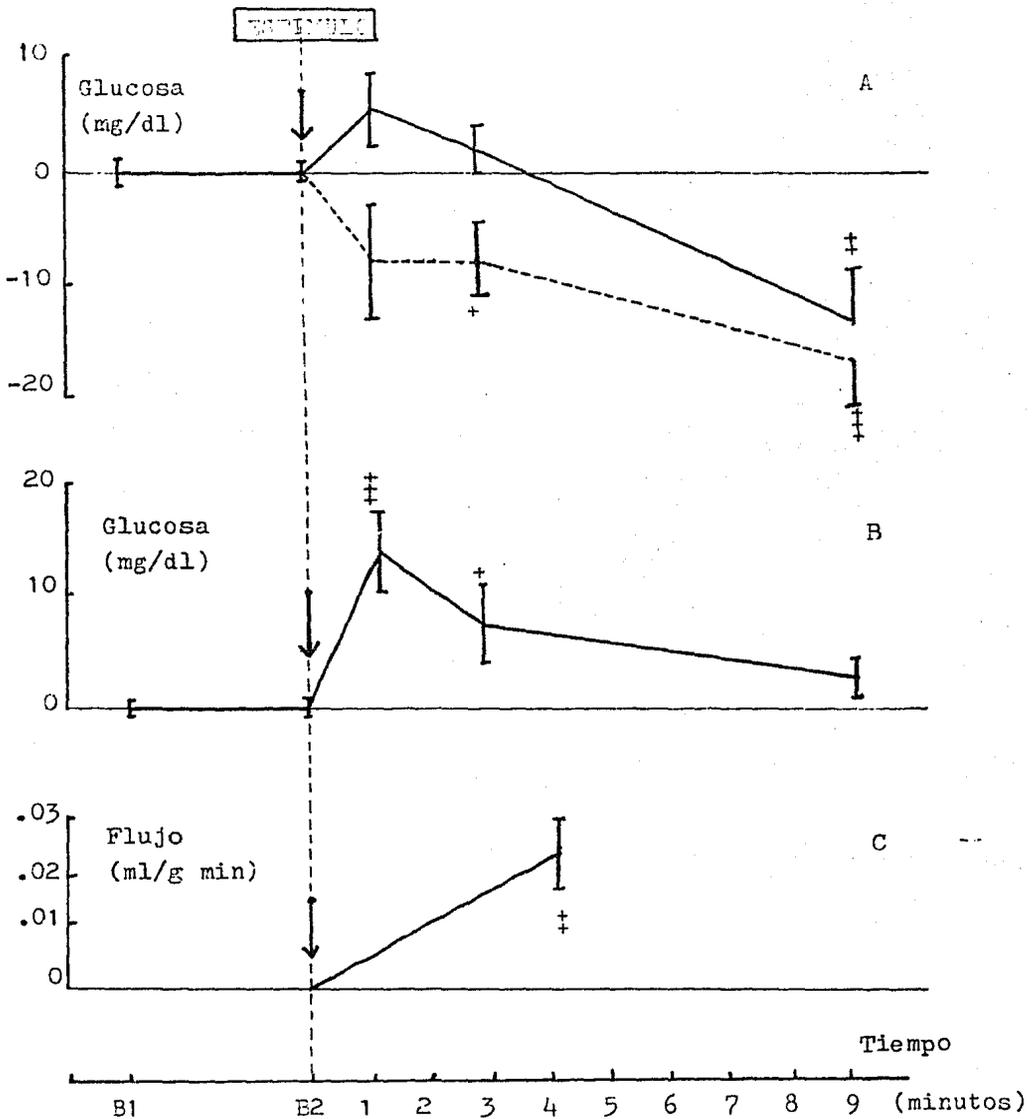


FIGURA 4 Efecto de la estimulación de la zona reflexogénica insulino-sensible mediante la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco. (A) Concentración de glucosa en la sangre de la arteria carótida (—) y de la vena yugular (----). (B) Diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa. (C) Flujo sanguíneo cerebral. Para todos los puntos n=11. En ésta y las siguientes figuras el 0 representa el promedio de las basales, las barras verticales el error standard y +p .05, †p .01 y ‡p .001.

Al analizar la cantidad de glucosa que es retenida por el encéfalo antes y después de estimular la zona reflexogénica insulino-sensible FIGURA 5 C, se observa que esta se incrementó significativamente al minuto 1 ($p < .001$) y continuó elevada hasta los 9 minutos ($p < .01$). Dicho aumento se debe principalmente a una disminución brusca en el contraflujo después del estímulo ($p < .001$) FIGURA 5B, ya que el valor del flujo de glucosa se mantuvo constante durante los 3 primeros minutos y después disminuyó levemente ($p < .01$) FIGURA 5A. El valor del coeficiente de absorción de glucosa arterial por el encéfalo aumentó significativamente después de la inyección de la microdosis de insulina ($p < .01$) y se mantuvo por encima del valor basal cuando habían transcurrido 9 minutos de la aplicación del estímulo FIGURA 5D.

Efecto de la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco, en animales con vagotomía cervical.

Después de la vagotomía cervical, la estimulación de la zona reflexogénica insulino-sensible produjo los siguientes efectos: Un minuto después de la inyección de la microdosis de insulina, la concentración de glucosa en la sangre arterial disminuyó significativamente ($p < .001$) y se mantuvo baja hasta los 9 minutos; la cantidad de azúcar en la sangre venosa descendió al minuto 3 después del estímulo ($p < .05$) y continuó disminuyendo hasta el minuto 9 ($p < .001$) FIGURA 6A. El cambio en la concentración de glucosa en la sangre venosa tuvo lugar con mayor lentitud que en la sangre arterial, pero la concentración de azúcar en la arteria siguió siendo mayor que la de la glucosa venosa. La diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa disminuyó al minuto 1 ($p < .001$) y permaneció en este nivel hasta el minuto 9 FIGURA 6B. El flujo sanguíneo cerebral disminuyó con posterioridad a la inyección de la microdosis de insulina ($p < .01$) FIGURA 6C.

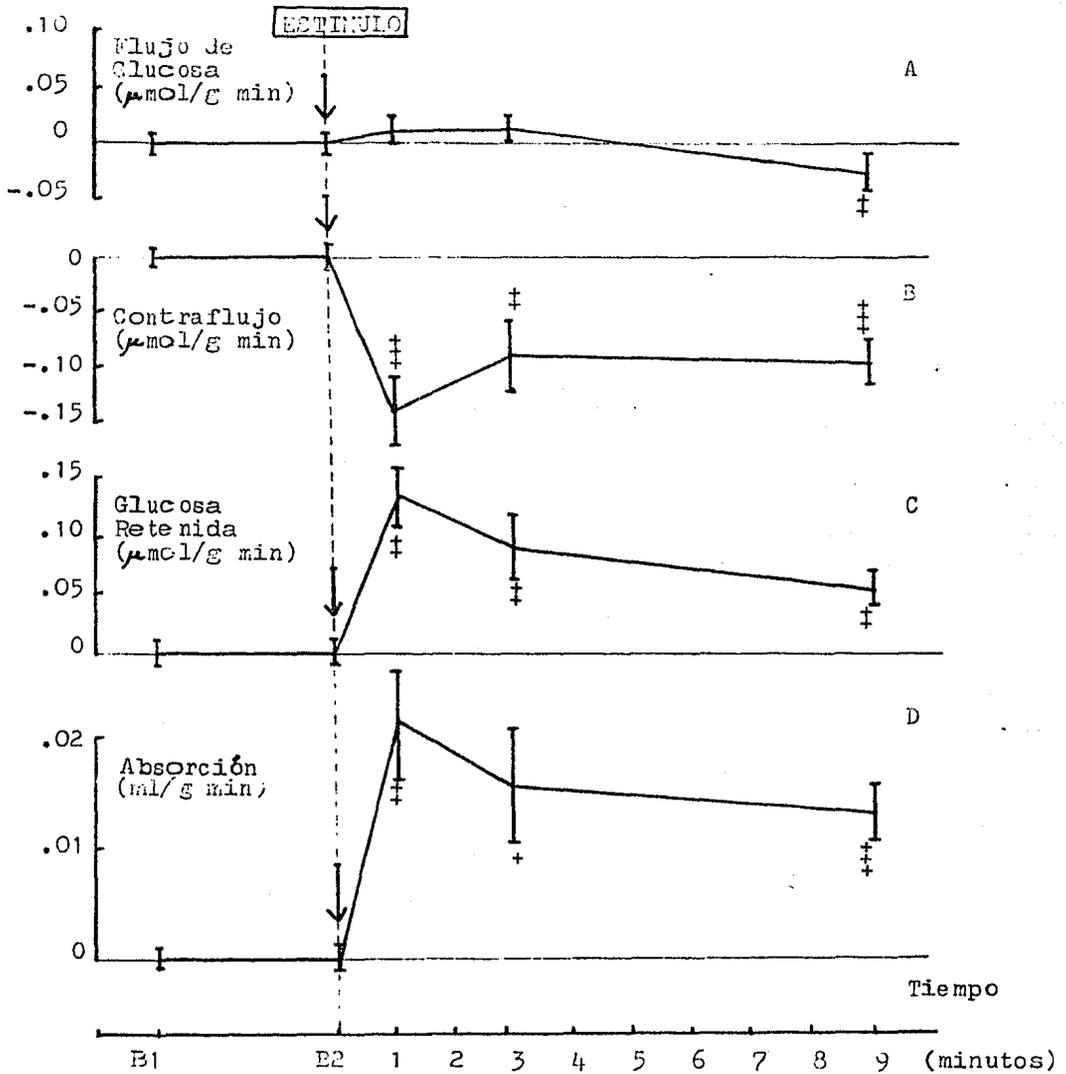


FIGURA 5 Efecto de la estimulación de la zona reflexogénica insulino-sensible mediante la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco. (A) Flujo de glucosa hacia el encéfalo. (B) Contraflujo. (C) Glucosa retenida por el cerebro. (D) Coeficiente de absorción de la glucosa arterial por el encéfalo. Para todos los puntos $n=11$.

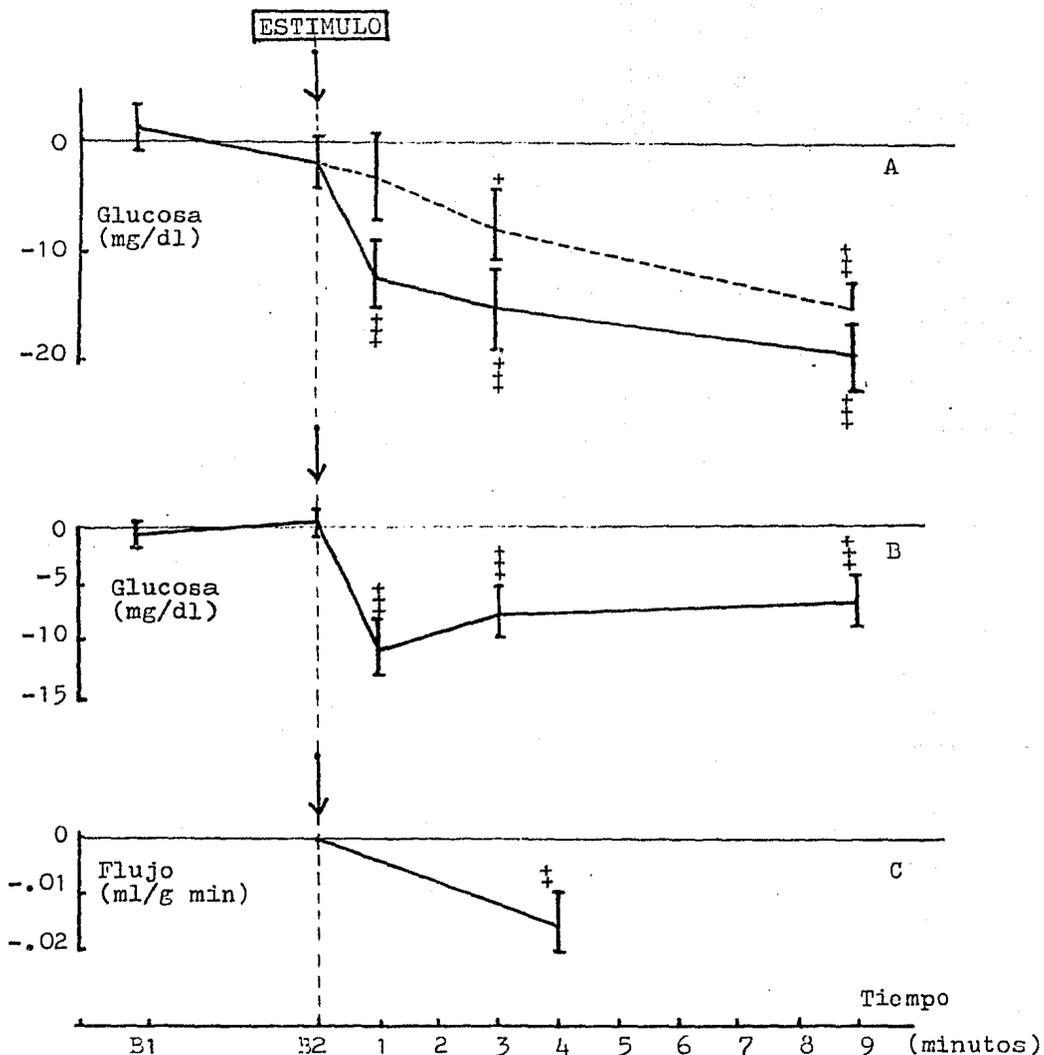


FIGURA 6 Efecto de la estimulación de la zona reflexogénica insulino-sensible mediante la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco en ratas con vagotomía cervical. (A) Concentración de glucosa en la sangre de la arteria carótida (—) y de la vena yugular (---). (B) Diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa. (C) Flujo sanguíneo cerebral. Para todos los puntos n=11.

La cantidad de glucosa retenida por el encéfalo descendió después del estímulo ($p < .001$) permaneciendo por debajo del nivel basal hasta los 9 minutos ($p < .01$) FIGURA 7C. Esta disminución es consecuencia de un descenso brusco en el flujo de glucosa hacia el cerebro ($p < .001$) FIGURA 7A, mientras el valor del contraflujo se mantuvo constante a los minutos 1 y 3 para después disminuir levemente al minuto 9 ($p < .001$) FIGURA 7B. El coeficiente de absorción de la glucosa arterial por el encéfalo siguió una cinética similar a la glucosa retenida después de la inyección de la microdosis de insulina FIGURA 7D.

Efecto de la inyección de insulina en la aorta abdominal después del tronco celiaco.

En los experimentos control, cuando el estímulo fue inyectado en la aorta abdominal después del tronco celiaco, de manera que no afectaba directamente la vía aferente del mecanismo nervioso encargado de la homeostasis de la glucosa, se observó que la concentración de glucosa en la sangre arterial se mantuvo constante durante los 3 primeros minutos después de aplicar el estímulo y disminuyó a los 9 minutos ($p < .001$). Por su parte la glucosa en sangre venosa no experimentó variación durante los primeros minutos y descendió levemente al minuto 9 ($p < .05$) FIGURA 8A. La diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa no varió significativamente durante el experimento aunque tendió ligeramente a descender FIGURA 8B. La cantidad de sangre que fluye por el cerebro disminuyó como consecuencia del estímulo ($p < .05$) FIGURA 8C.

El valor de la glucosa retenida por el encéfalo descendió después de la aplicación del estímulo ($p < .01$) manteniéndose bajo hasta los 9 minutos, aunque se aprecia una pequeña recuperación al minuto 3 FIGURA 9C. La disminución en la glucosa retenida se debe a un descenso del flujo de glucosa hacia el cerebro a los minutos 3 y 9 ($p < .05$ y $p < .01$) FIGURA 9A, en tanto que el valor del contraflujo se mantiene durante todo

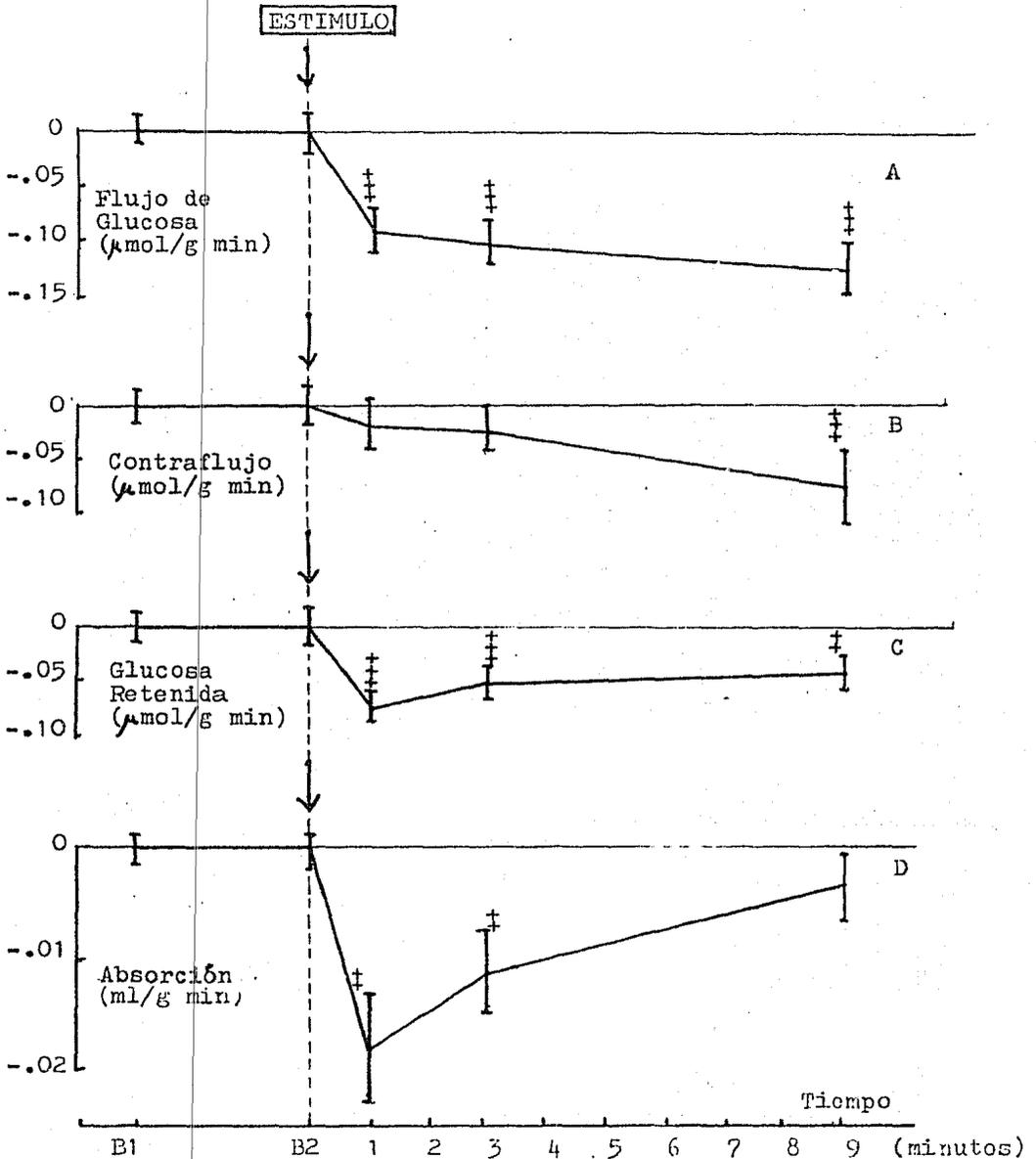


FIGURA 7 Efecto de la estimulación de la zona reflexogénica insulino-sensible mediante la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco en ratos con vaotomía cervical. (A) Flujo de glucosa hacia el encéfalo. (B) Contraflujo. (C) Glucosa retenida por el cerebro. (D) Coeficiente de absorción de la glucosa arterial por el encéfalo. Para todos los puntos n=11.

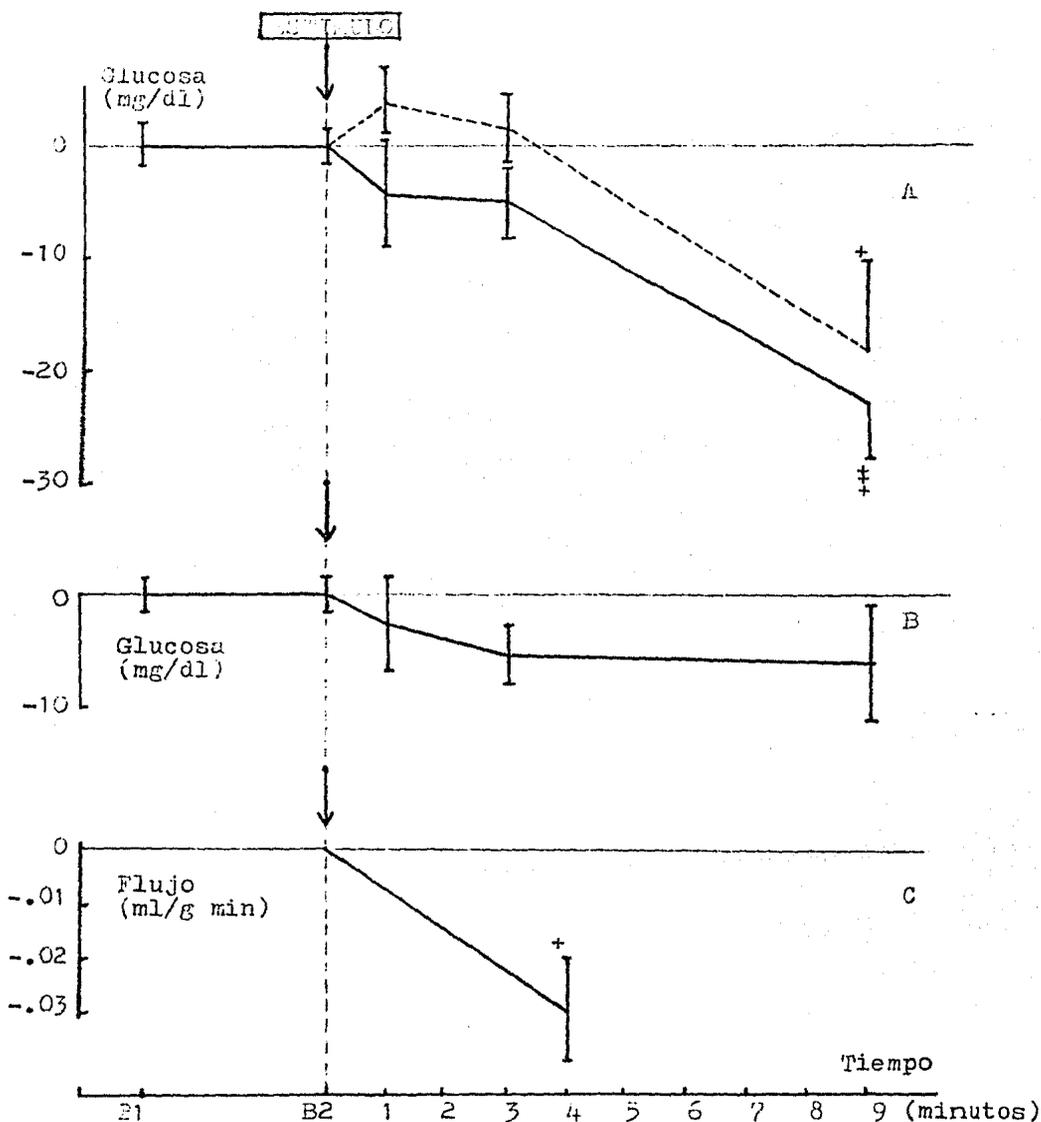


FIGURA 8 Efecto de la inyección de insulina en la aorta abdominal después del tronco celiaco. (A) Concentración de glucosa en la sangre de la arteria carótida (—) y de la vena yugular (- - -). (B) Diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa. (C) Flujo sanguíneo cerebral. Para todos los puntos n=6.

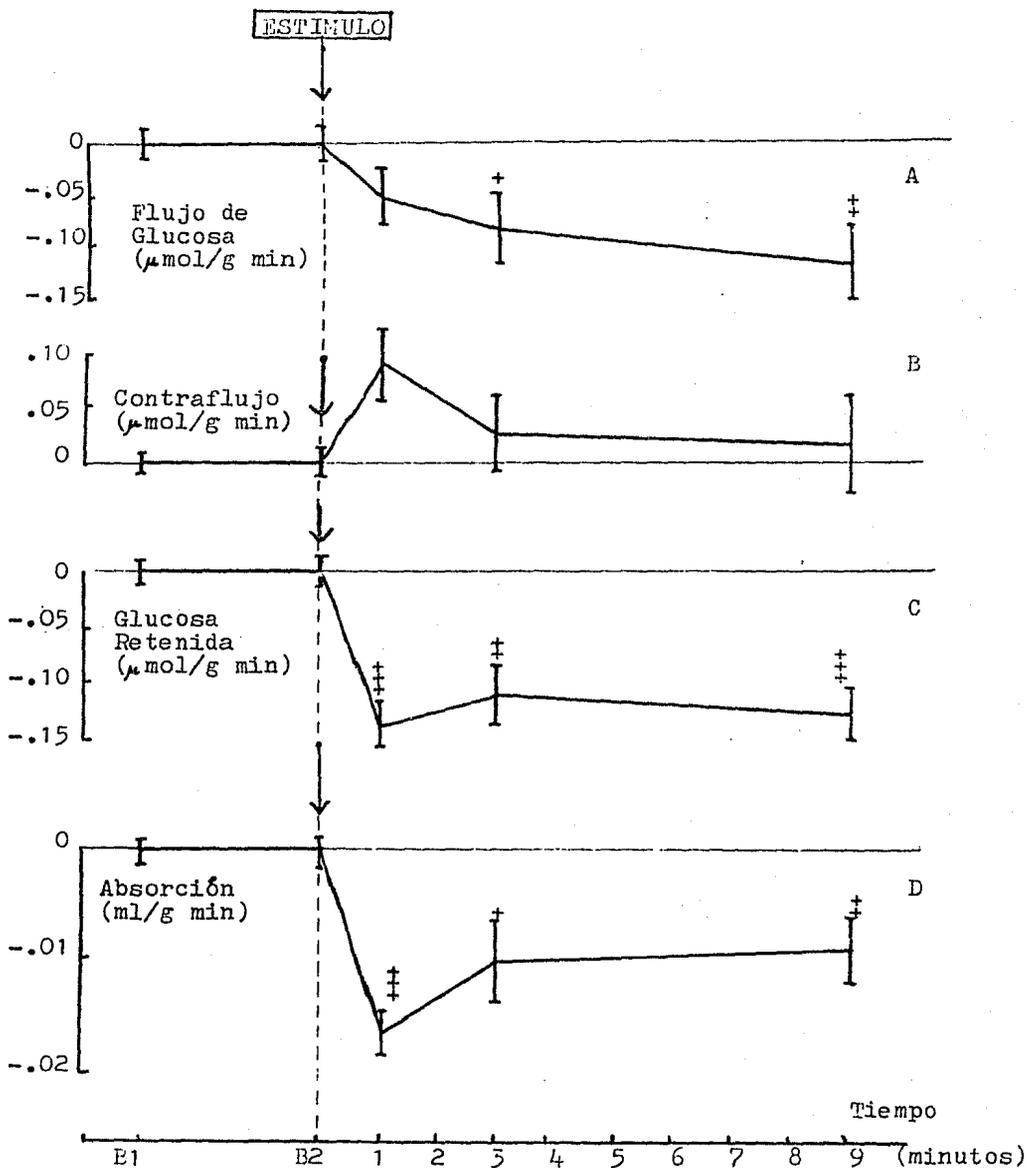


FIGURA 9 Efecto de la inyección de insulina en la aorta abdominal después del tronco celiaco. (A) Flujo de glucosa hacia el encéfalo. (B) Contraflujo. (C) Glucosa retenida por el cerebro. (D) Coeficiente de absorción de la glucosa arterial por el encéfalo. Para todos los puntos n=6.

el experimento en el nivel basal FIGURA 9E. El coeficiente de absorción de la glucosa arterial por el encéfalo disminuyó al minuto de aplicar el estímulo ($p < .001$) recuperándose levemente a los 3 minutos ($p < .05$) con un descenso posterior al minuto 9 ($p < .01$) FIGURA 9D.

Efecto de la inyección del vehículo de la insulina (agua destilada) en la aorta abdominal antes del tronco celiaco.

En las ratas en las que se inyectó el vehículo de la insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco, se observó que tanto la concentración de glucosa en sangre arterial como la venosa se mantuvieron sin variaciones estadísticamente significativas durante el experimento, aunque existió una tendencia a aumentar al minuto 9 FIGURA 10A. La diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa disminuyó a los minutos 1 y 3 después de la aplicación del vehículo ($p < .05$) para volver, a los 9 minutos, al valor basal FIGURA 10B. Aunque el flujo sanguíneo cerebral aparentemente tendió a disminuir, su descenso no fue estadísticamente significativo.-- FIGURA 10C.

La cantidad de glucosa que es retenida por el encéfalo descendió a los minutos 1 y 3 después de la aplicación del vehículo ($p < .05$) con regreso al valor basal al minuto 9 FIGURA 11C. La disminución se debe a un aumento en el contraflujo en los minutos 1 y 3 posteriores al estímulo ($p < .01$ y $p < .05$) FIGURA 11B, en tanto que el flujo de glucosa se mantiene estable FIGURA 11A. El valor del coeficiente de absorción de la glucosa arterial por el encéfalo disminuyó a los minutos 1 y 3 después de la inyección del vehículo ($p < .05$) y regresó al valor basal a los 9 minutos FIGURA 11D.

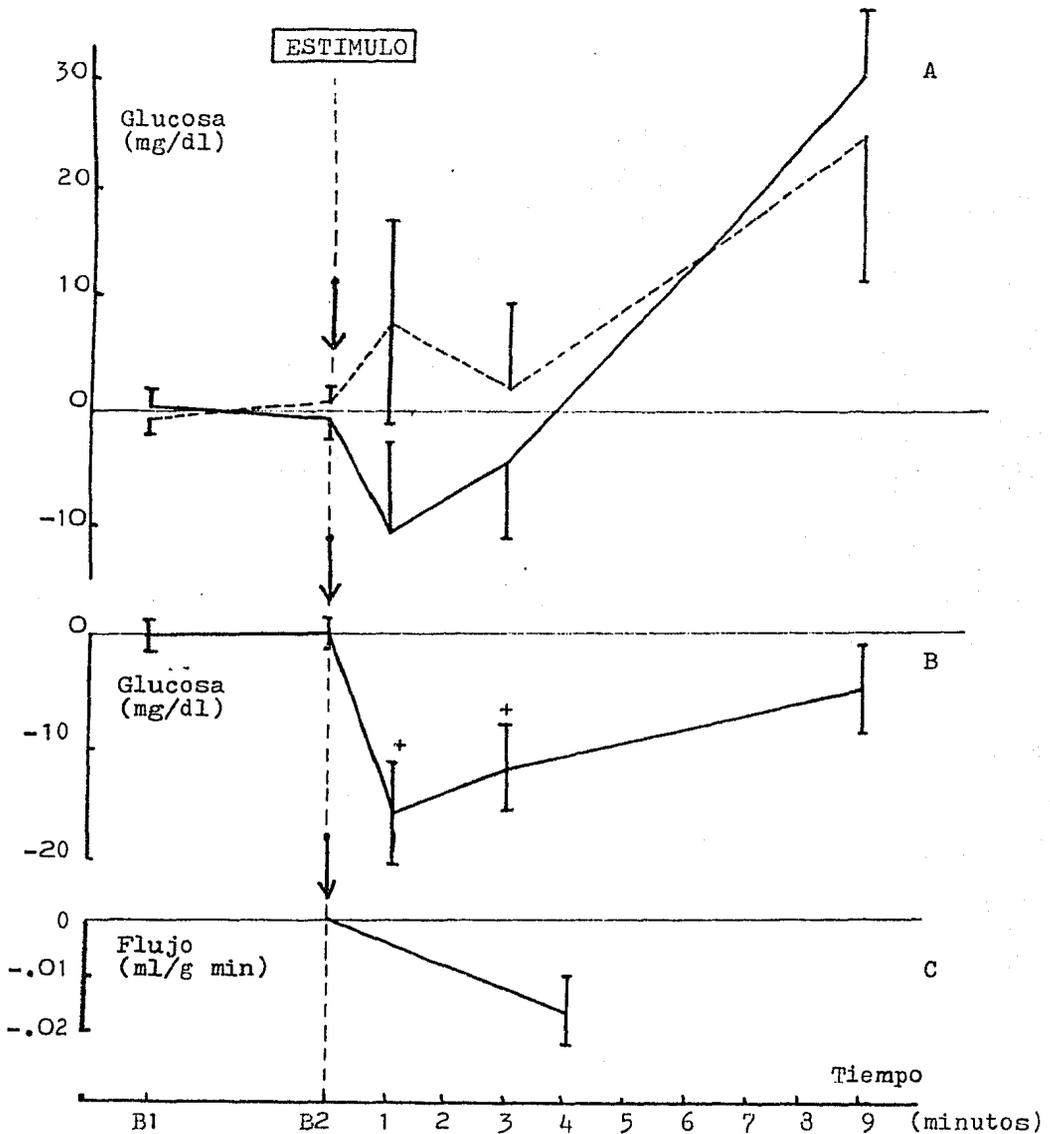


FIGURA 10 Efecto de la inyección del vehículo de la insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco. (A) Concentración de glucosa en la sangre de la arteria carótida (—) y de la vena yugular (---). (B) Diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa. (C) Flujo sanguíneo cerebral. Para todos los puntos n=6.

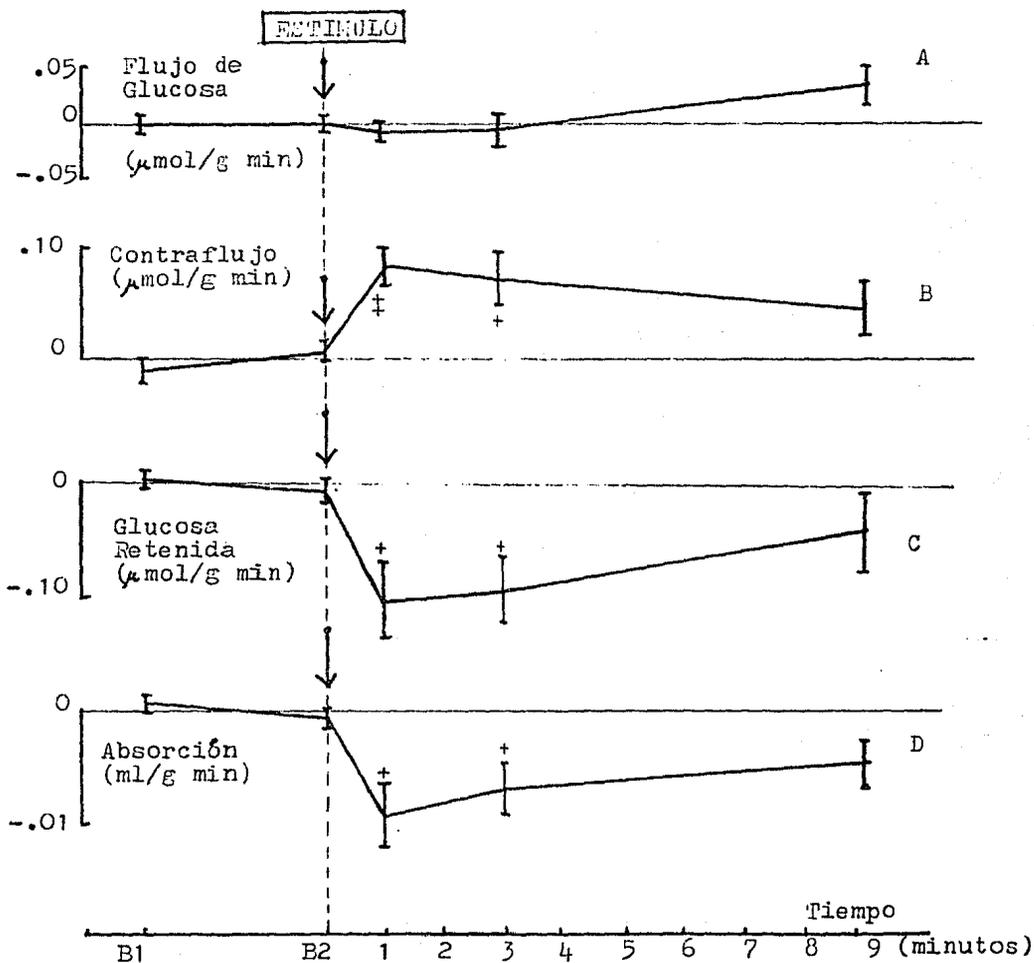


FIGURA 11 Efecto de la inyección del vehículo de la insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco. (A) Flujo de glucosa hacia el encéfalo. (B) Contraflujo. (C) Glucosa retenida por el cerebro. (D) Coeficiente de absorción de la glucosa arterial por el encéfalo. Para todos los puntos n=6.

DISCUSION

La metodología empleada, aunque no es la más sensible que se haya desarrollado para medir las variables que se estudiaron en este trabajo; permite seguir su cinética en períodos cortos de tiempo después de la aplicación del estímulo. Algunas variables de este estudio se calcularon a partir de modelos matemáticos simples y no se midieron directamente o fueron cuantificados utilizando las versiones más exactas de dichos modelos. Esto se debe a que tanto las técnicas que se emplean para medir las variables como aquellas que se necesitan para calcular algunos términos de los modelos más exactos, implican el sacrificio inmediato de los animales después de la determinación y no permiten efectuar varias mediciones sucesivas en el mismo organismo. La diferencia de sensibilidad entre la técnica empleada y metodologías más complejas se aprecia al comparar los valores en la TABLA I. Las divergencias que se observan en los valores de las variables en las ratas antes y después de la vagotomía cervical pueden atribuirse a que los organismos no se recuperan totalmente de la intervención experimental anterior a la vagotomía y a los efectos de la misma. Los coeficientes de variación ligeramente altos en los valores de glucosa sanguínea reflejan probablemente diferencias en el nivel de la anestesia en los organismos.

Los experimentos realizados demuestran que la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco, es decir, cuando alcanza la zona reflexogénica insulino-sensible, produce un incremento en la cantidad de glucosa que es retenida por el encéfalo con un tiempo de latencia muy corto. El aumento en la glucosa retenida se debe a una disminución en el proceso de contraflujo, mientras el valor del flujo de glucosa hacia el cerebro se mantiene constante. Un descenso en la cantidad de glucosa que regresa a la circulación desde el encéfalo, como consecuencia de un incremento en

la concentración de la insulina circulante, había sido previamente reportado (Daniel y cols., 1977), y se sabe que se debe a un aumento en el metabolismo encefálico más que a un cambio en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. El incremento en la cantidad de glucosa que es retenida se debe tanto a un aumento en la diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa como a un incremento en el flujo sanguíneo cerebral. El aumento en la diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa como respuesta a la inyección de una microdosis de insulina en la región irrigada por la arteria pancreático-duodenal había sido reportado en perros, gatos y conejos (Alvarez-Buylla y cols., 1961, 1981b).

La inyección control de insulina en un punto de la aorta abdominal después del tronco celiaco, de manera que ésta no pueda estimular directamente la zona reflexogénica insulino-sensible, no produce el efecto anterior. Esto indica que la causa del aumento de la cantidad de glucosa que es retenida por el encéfalo no es el incremento de la insulina que circula en la sangre arterial ya que ésta es la misma en ambos experimentos. En un trabajo previo (Alvarez-Buylla y Bencosme, 1981) se midió la cantidad de insulina inmuno reactiva en sangre arterial después de la inyección de microdosis iguales de insulina en la aorta abdominal antes y después del tronco celiaco, encontrándose que su concentración era similar en ambos casos. El efecto en la retención de glucosa por el cerebro sólo se produce cuando la insulina inyectada alcanza una región irrigada por el tronco celiaco en una concentración suficiente para disparar el reflejo. El descenso en la cantidad de glucosa retenida por el encéfalo que se observa al inyectar la microdosis de insulina en la aorta abdominal después del tronco celiaco, puede ser atribuido a la acción directa de la insulina, la cual hace que disminuya la concentración de glucosa en la sangre arterial y por lo tanto en el flujo de glucosa hacia el cerebro (Daniel y cols., 1975a).

Una inyección control del vehículo de la insulina, agua destilada, en la aorta abdominal antes del tronco celiaco, produce también una disminución en la cantidad de glucosa que es retenida por el encéfalo. Este efecto podría ser consecuencia de la dilución que experimenta la sangre, alterando los procesos de flujo y contraflujo de la glucosa en la barrera hematoencefálica. Los resultados de este experimento no muestran el efecto típico de la insulina que consiste en disminuir la concentración de glucosa en la sangre arterial y por lo tanto el flujo de glucosa hacia el encéfalo.

La estimulación de la zona reflexogénica insulino-sensible en las mismas condiciones en las que producía un incremento en la cantidad de glucosa que era retenida por el cerebro, pierde su efecto cuando se han cortado los nervios neumogástricos a nivel cervical. Estos resultados indican la participación del nervio vago como vía aferente del mecanismo nervioso encargado de la homeostasis de la glucosa, a través de la cual, el cerebro recibe información acerca de la cantidad de glucosa que debe retener. El papel del vago como componente aferente del reflejo insulínico importante en mantener la cantidad de azúcar en la sangre, ha sido sugerido (Alvarez-Buylla y cols., 1961, 1973, 1975, 1981b), y es corroborado por experimentos en los que se estimula el cabo central del vago seccionado mediante un pulso de corriente eléctrica, produciéndose un incremento en la diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa (Alvarez-Buylla y Bencosme, 1981b). También se ha sugerido el papel del nervio neumogástrico como vía efectora del reflejo (Frohman y Ezdinli, 1967; Kaneto y cols., 1967; Woods, 1972; Woods y Porte, 1974).

Es importante recordar aquí la tendencia a la recuperación que se observa en la glucosa retenida y en el coeficiente de absorción del minuto 1 al 3 en los experimentos en los que se inyectó la microdosis de insulina en la aorta abdominal des-

pués del tronco celiaco. Esta ligera recuperación puede deberse a que la insulina inyectada en una región con difícil acceso a la zona reflexogénica insulino-sensible, llega en una concentración suficiente para desencadenar la liberación de señales por el vago, después de haber recorrido todo el organismo. La tendencia a recuperarse del descenso en la glucosa retenida y el coeficiente de absorción de la glucosa arterial por el encéfalo, no se observa en los animales que han sido sujetos a vagotomía cervical.

La respuesta en la retención de glucosa por el cerebro, generada por la estimulación de la zona reflexogénica insulino-sensible que envía señales a través del nervio neumogástrico, tiene un tiempo de latencia muy corto. Desde los trabajos de Houssay y Biasotti (1931) y Houssay y Magenta (1924) se postuló la idea de que la hipófisis tiene un papel regulador sobre el metabolismo de los carbohidratos. En un trabajo más reciente se reporta el aislamiento de un péptido con propiedades hipoglicemiantes en extractos de la pituitaria anterior (Huggins y Ottaway, 1960). Otros trabajos indican que se puede causar una disminución en el nivel de glucosa de la sangre sin la participación de la insulina y en un lapso de tiempo menor a la latencia de esta proteína. Alvarez-Buylla y Carrasco-Zanini (1960), establecieron un reflejo condicionado hipoglicemiante al asociar en el tiempo una inyección de insulina con el sonido de un timbre y demostraron que la respuesta al estímulo persistía en animales pancreatectomizados. Alvarez-Buylla y Alvarez-Buylla (1975) analizaron los tiempos que tardaban en producirse las respuestas hipoglicemiantes al inyectar insulina y al aplicar el estímulo condicionado, encontrando que la respuesta a este último presenta un tiempo de latencia menor. Los resultados obtenidos por estos autores sugieren nuevamente la existencia de un neuropéptido que ejercería influencia sobre la absorción de glucosa por los tejidos. Por la velocidad con la que se observa un cambio en la retención de glu-

cosa por el encéfalo, los resultados de este trabajo apoyan la existencia de una neurosecreción con un tiempo de latencia muy corto que actuaría sobre este órgano.

El hecho de que exista un aumento en la retención de glucosa por el encéfalo como consecuencia de la inyección de una microdosis de insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco, señala un posible mecanismo de acción de la insulina a través del cual esta molécula podría regular la utilización de glucosa por el cerebro. Es conocido que la insulina puede tener dos efectos sobre la cantidad de glucosa que es retenida por el encéfalo: cuando la concentración de esta proteína aumenta significativamente en el torrente sanguíneo, el flujo de glucosa disminuye (Butterfield y cols., 1966; Daniel y cols., 1975a). Este efecto de la insulina es indirecto pues se logra por medio de un descenso de la concentración de glucosa en la sangre, que causa que la cantidad de este sustrato capaz de entrar al cerebro disminuya. Cuando se inyecta insulina y se mantiene en forma artificial la concentración de glucosa en la sangre arterial constante, o al inyectar microdosis de insulina en ciertas regiones del organismo, el efecto de esta proteína es inverso, produciéndose un aumento en la glucosa retenida al descender el contraflujo y un incremento en el metabolismo encefálico (Grayson y Mendel, 1960; Flock y cols., 1969; Daniel y cols., 1977). A pesar de que los efectos de la insulina se conocen, el mecanismo de acción de esta hormona aún no se ha logrado aclarar.

En un principio se pensó que la insulina podría actuar directamente sobre las células nerviosas atravesando la barrera hematoencefálica; aunque se ha detectado que pequeñas cantidades de esta proteína entran al cerebro ($3 \mu\text{U/ml}$), su concentración, comparada con la enorme cantidad de glucosa que el cerebro utiliza, resulta muy baja (Margolis y Altzuler, 1967). Por esta razón se duda de la importancia fisiológica que la

insulina pueda ejercer sobre la retención de glucosa por este órgano. El trabajo de Debons (1970), por otra parte, demuestra que la insulina inyectada directamente al líquido cefalorraquídeo tiene una función diferente; actuando sobre el centro de la saciedad en el hipotálamo y modificando el apetito.

Otro mecanismo de acción, por medio del cual se ha sugerido que la insulina podría ejercer su influencia, sería a través de cambios en la permeabilidad de las membranas de las células endoteliales de la barrera hematoencefálica, causados por la unión de esta proteína con sus receptores. Estos cambios implicarían probablemente la acción de un mensajero secundario. La existencia de receptores de insulina distribuidos en todo el cerebro ha sido reportada (Havrančova, 1978) y se sabe que éstos se encuentran en mayor abundancia en el hipotálamo e hipocampo. Los receptores se localizan en los endotelios de los vasos sanguíneos y no directamente en las células nerviosas (Van Houten y Posner, 1979). Sin embargo, la función de las moléculas receptoras se pone en duda en el trabajo de Lautala y Martin (1981) en el que miden transporte y oxidación de la glucosa en regiones del encéfalo ricas en receptores de insulina in vitro, demostrando que el transporte de glucosa al incrementarse la concentración de insulina en el medio de cultivo, no se encuentra afectado y que la oxidación de esta molécula disminuye. Los experimentos de Goodner y colaboradores (1980) muestran resultados similares in vivo. Se han reportado receptores glucorreguladores sensibles a la insulina en el sistema nervioso central los cuales ejercen influencia sobre la glicogenolisis hepática (Kotlyar, 1971; Zsabo y Szabo, 1972). Se sabe que estos receptores son de naturaleza neural y que responden a la unión de la insulina a la membrana celular; sin embargo, no se ha logrado comprobar que esta proteína altere la utilización de glucosa en el área sensible (Szabo y Szabo, 1975a). Por otra parte, el trabajo de Arief y colaboradores (1974) pone en evidencia que

la insulina afecta directamente el transporte de Na^+ y K^+ hacia el cerebro, relegando la influencia de la interacción de esta molécula con su acarreador, respecto a la utilización de glucosa, a un lugar secundario.

Daniel y colaboradores (1975a) sugirieron que la insulina ejercía su acción a través del efecto secundario sobre los cuerpos cetónicos. Una inyección de insulina provoca una disminución en la concentración de cuerpos cetónicos accesibles al encéfalo y podría forzar a este órgano a retener y utilizar una mayor cantidad de glucosa. Los mismos autores en un trabajo posterior (1977), descartaron esta posibilidad al inyectar simultáneamente insulina y cuerpos cetónicos, produciendo efectos similares a los obtenidos previamente en la utilización de glucosa por el cerebro. En el mismo trabajo, aparece la idea de que el mecanismo de acción de la insulina fuera debido a un desbalance de los aminoácidos que entran al encéfalo. El cambio producido por la insulina en la concentración de los aminoácidos en el plasma y en el líquido cefalorraquídeo fue descrito por Fernstrom y Wurtman (1972), quienes explicaron que la mayoría de los aminoácidos con cadenas ramificadas, disminuyen en concentración después de la administración de insulina, en tanto que, la cantidad de triptofano se mantiene casi constante. La concentración de triptofano no disminuye ya que éste viaja unido a la albúmina y no libremente, lo cual dificulta su absorción por las células. Al existir una competencia entre los aminoácidos con cadenas ramificadas por una misma molécula acarreadora en la barrera hematoencefálica, y encontrarse todos disminuidos en concentración excepto el triptofano; éste entra en mayor cantidad al cerebro. Sin embargo, Daniel y colaboradores (1975b) habían aclarado que para producir un aumento notable en la concentración de triptofano en el encéfalo, se requerían cantidades muy grandes de insulina, capaces de producir coma hipoglucémico, por lo que el cerebro debería ser muy sensible a modificaciones pequeñí-

simas en la concentración de aminoácidos, para que este mecanismo de acción de la insulina fuera eficaz.

El conocimiento del reflejo insulínico abre una nueva posibilidad para el estudio del mecanismo regulador de la cantidad de glucosa que retiene y utiliza el encéfalo. Los resultados obtenidos no descartan el efecto que pueda ejercer la insulina sobre la retención de glucosa al penetrar por la barrera hematoencefálica hacia el cerebro, la participación de un mensajero secundario sintetizado por la unión de esta proteína con su receptor en las membranas celulares o la influencia de la alteración en la concentración de ciertas moléculas, como los cuerpos cetónicos o el triptofano, en la sangre y en el mismo cerebro; pero este trabajo sí propone un nuevo mecanismo de acción de la insulina por medio del cual ésta podría regular la utilización de la glucosa que es la fuente principal de energía para el encéfalo.

El mecanismo que sugieren los presentes resultados para la acción reguladora de la insulina sobre la retención de glucosa por el cerebro podría resumirse de la siguiente manera: los receptores insulino-sensibles localizados en la región irrigada por la arteria pancreático-duodenal son estimulados por cambios en la concentración de esta proteína e informan indirectamente de alteraciones en la glicemia. Esta información es conducida por fibras del nervio neumogástrico hasta llegar al núcleo solitario y de allí directamente al sistema hipotálamo-hipofisiario, motivando como respuesta la neurosecreción de un factor hipoglicemiante que tiene como función aumentar la retención de glucosa por el encéfalo con un tiempo de latencia muy corto. FIGURA 12.

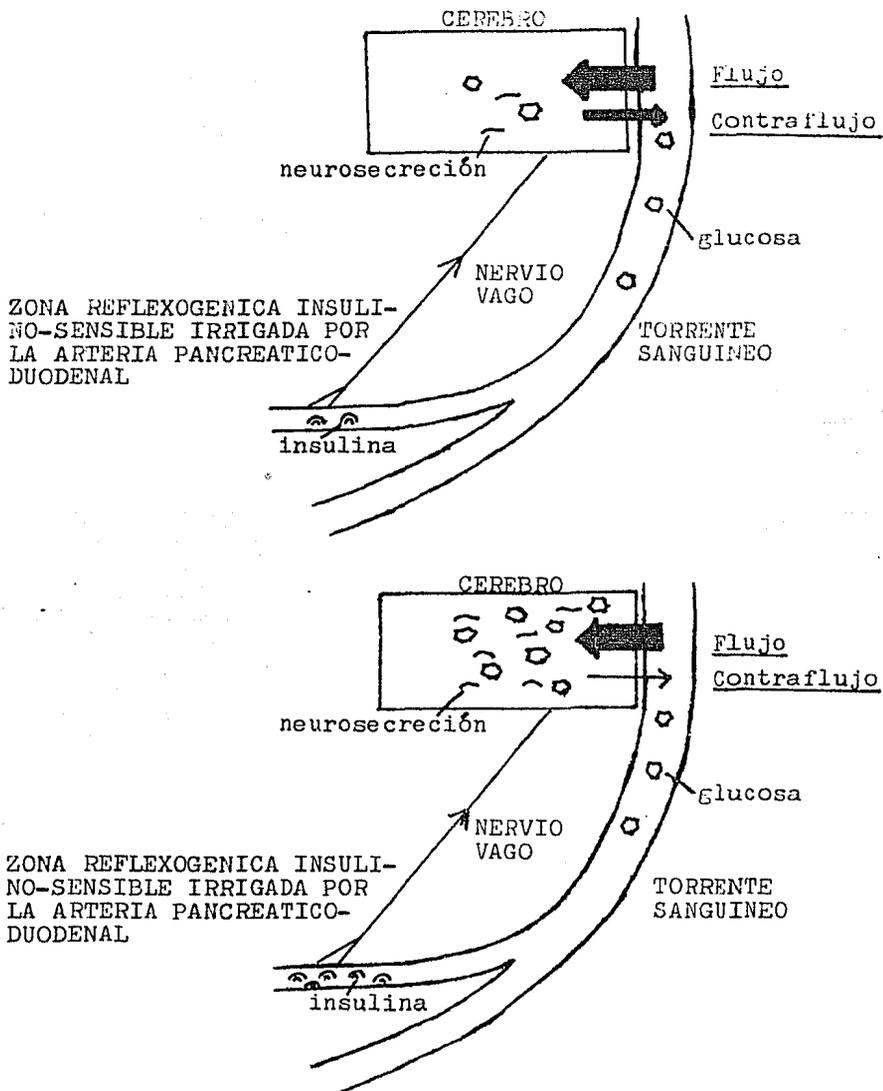


FIGURA 12 Mecanismo regulador de la insulina sobre la retención de glucosa por el cerebro. La insulina estimula receptores específicos en la región irrigada por la arteria pancreático-duodenal con vía aferente a través del nervio vago. Esta información motiva la secreción de un neuropéptido en el cerebro que causa una mayor retención de glucosa por este órgano al disminuir el proceso de contraflujo.

Es interesante hacer resaltar el hecho de que no es la glucosa quien informa directamente al encéfalo acerca de la cantidad de este carbohidrato que debe retener, sino la insulina, molécula reguladora de la cantidad de glucosa en la sangre, la que lleva a cabo esta función. El modelo es similar a los servosistemas integrados que responden a los cambios que se producen en las variables, más que a los niveles mismos de ellas. Un sistema de esta naturaleza, permite al cerebro abastecerse de glucosa antes de que disminuya el nivel de este carbohidrato en la sangre arterial como consecuencia de la insulina y permite que dicho órgano envíe señales para contrarrestar la alteración en la glicemia antes de que su funcionamiento quede dañado por dicho cambio.

CONCLUSIONES

- 1) La cantidad de glucosa que es retenida por el encéfalo se incrementa cuando se estimula, mediante la inyección de una microdosis de insulina, la zona reflexogénica insulino-sensible en la región que irriga la arteria pancreático-duodenal.
- 2) El aumento en la glucosa retenida por el cerebro se debe a una disminución en el contraflujo de esta molécula hacia el torrente sanguíneo y está determinado tanto por un incremento en la diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa como por un aumento en el flujo sanguíneo cerebral.
- 3) El efecto del estímulo desaparece cuando se cortan los nervios neumogástricos a nivel cervical, lo cual indica que ésta es la vía a través de la cual se conducen las señales que informan al encéfalo acerca de la cantidad de glucosa que debe retener.
- 4) La respuesta al estímulo no aparece si la microdosis de insulina es inyectada en un punto de la aorta abdominal donde su acceso a la zona reflexogénica insulino-sensible no es directo.
- 5) Tampoco aparece la respuesta cuando se inyecta el vehículo de la insulina en la aorta abdominal antes del tronco celiaco, es decir, en la zona reflexogénica insulino-sensible.

Estos resultados señalan la posibilidad de que la insulina actúe como factor regulador de la cantidad de glucosa retenida por el encéfalo, al estimular receptores insulino-sensibles localizados en la región irrigada por el tronco celiaco con vía aferente a través del nervio neumogástrico. Se plantea la existencia de una neurosecreción hipoglicemiante que ejercería su acción sobre la retención de glucosa por el cerebro con un tiempo de latencia muy corto.

BIBLIOGRAFIA

- Agarwala, G.C., Bapat, V., Singh, K.N., Mittal, R.K.: Effect of centrally administered glucose on blood glucose levels in dogs. Indian J. Physiol. Pharmac. 65(5):720-728, 1977.
- Agarwala, G.C., Mittal, R.K., Bapat, S.K., Bhardawaj, U.R.: Effect of centrally administered insulin on blood glucose levels in dogs. Indian J. Physiol. Pharmac. 21(1), 1977.
- Alvarez-Buylla, R.: Efecto reflejo de la insulina y regulación de la glicemia. Ciencia Mex. 28(4):143-148, 1973.
- Alvarez-Buylla, R.: Glucose influence on the carotid sinus chemoreceptor function. Proc. VI Internat. Meeting. Eds. Belmonte, Pallot, Acker and Fidone, 1981a.
- Alvarez-Buylla, R., Alvarez-Buylla, E.R. de: Hypoglycemic conditioned reflex in rats: preliminary study of its mechanism. J. of Comp. Physiol. Psychol. 88(1):155-160, 1975.
- Alvarez-Buylla, R., Bencosme, S.A.: Reflex hypoglycemia initiated by insulin. Acta Physiol. Latinoam. 31:1-11, 1981b.
- Alvarez-Buylla, R., Carrasco-Zanini, J.: A conditioned reflex which reproduces the effect of insulin. Acta Physiol. Latinoam. 10:153-158, 1960.
- Alvarez-Buylla, R., Segura, E.T., Alvarez-Buylla, E.R.: A study of the afferent path of the hypoglycemic reflex of insulin. Acta Physiol. Latinoam. 11(2):43-50, 1961.
- Arieff, A.J., Doerner, T., Zelig, H., Massry, S.G.: Mechanism of seizures and coma in hypoglycemia. J. Clin. Invest. 54:654-663, 1974.
- Bachelard, H.S., Daniel, P.M., Love, E.R., Pratt, O.E.: The in vivo influx of glucose into the brain of the rat compared with the net cerebral uptake. Proc. of the Physiol. Soc. 149P, 1972.
- Bachelard, H.S., Daniel, P.M., Love, E.R., Pratt, O.E.: The transport of glucose into the brain of the rat in vivo. Proc. R. Soc. Lond. B183:71-82, 1973.
- Banting, F.G., Best, C.H.: The internal secretion of the pancreas. J. Lab. Clin. Med. 7:251-464, 1922.

- Bergman, R., Miller, R.: Direct enhancement of insulin secretion by vagal stimulation of the isolated pancreas. Am. J. Physiol. 225(3):481-486, 1973.
- Bernard, C.: Leçons sur le système nerveux, Paris, 1857.
- Betz, A.L., Gilboe, D.D., Yudilevich, D.L., Drewes, L.R.: Kinetics of unidirectional glucose transport into the isolated dog brain. Am. J. Physiol. 225(3):586-592, 1973.
- Brower, G.H., Lamptey, M.S., Martin, J.M.: Isolation and partial characterization of insulin-glucagon liberin from bovine hypothalamus. Life Sciences 30:703-710, 1982.
- Buschiazzo, P.M., Terrel, E.B., Regen, D.M.: Sugar transport across the blood brain barrier. Am. J. Physiol. 219:1505-1513, 1970.
- Butterfield, W.F.H., Abrams, M.E., Sells, R.A., Sterky, G., Whiclow, M.J.: Insulin sensitivity of the human brain. Lancet i: 557-560, 1966.
- Caster, W.O., Poncelet, J., Simon, A.B., Armstrong, W.D.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 91:122, 1956.
- Chen, M., Woods, S.C., Porte, D. (Jr): Effect of intraventricular insulin on pancreatic insulin secretion in the dog. Diabetes 24:910, 1975.
- Chleri, R.A., Farina, J.M.S., Halperin, J., Basabe, J.C.: Effect of cephalic glucose infusion on insulin secretion. Diabetologia 11:175-180, 1975.
- Cooper, F.R., Bloom, F.E., Roth, R.H.: The biochemical basis of neuropharmacology. Tercera edición. Oxford Univ. Press N.Y. p:327, 1978.
- Crane, P.D., Pardridge, W.M., Braun, L.D., Nyerges, A.M., Oldendorf, W.H.: The interaction of transport and metabolism on brain glucose utilization: a reevaluation of the lumped constant. J. Neurochem. 36:1601-1604, 1981.
- Crone, C.: Facilitated transfer of glucose from blood to brain tissue. J. Physiol. 181:103-113, 1965.
- Cutler, R.W.P., Sipe, J.C.: Mediated transport of glucose between blood and brain in the cat. AM. J. Physiol. 220:1182-1186, 1971.

- Daniel, P.M., Love, E.R., Pratt, O.E.: Insulin and the way the brain handles glucose. J. Neurochem. 25:471-476, 1975a.
- Daniel, P.M., Love, E.R., Pratt, O.E.: Aminoacids, insulin and hepatic coma. Lancet ii:179-180, 1975b.
- Daniel, P.M., Love, E.R., Pratt, O.E.: The influence of insulin upon the metabolism of glucose by the brain. Proc. R. Soc. Lond. B. 196:85-104, 1977.
- Daniel, P.M., Love, E.R., Pratt, O.E.: The effect of age upon the influx of glucose into the brain. J. Physiol. 274:141-148, 1978.
- Debons : A direct action of insulin on the hypothalamic satiety center. Am. J. Physiol. 219:938, 1970.
- Fernstrom, J.D., Wurtman, R.J.: Elevation of plasma tryptophan by insulin in rat. Metabolism 21:337-342, 1972.
- Flock, E.V., Tyce, G.M., Owen, Ch.A.: Regulatory effects of insulin and liver on brain glucose metabolism. Endocrinol. 84:392-406, 1969.
- Frohman, L., Bernardis, L.: Effect of hypothalamic stimulation on plasma glucose, insulin and glucagon levels. Am. J. Physiol. 221:1596-1603, 1971.
- Frohman, L., Ezdinli, E.: Effect of vagotomy and vagal stimulation on insulin secretion. Diabetes 16:443-448, 1967.
- Gardner, E., Gray, D.J., O'Rahilly, R.: Anatomy. Cuarta edición W.B.Saunders Co. U.S.A. p:821, 1975
- Gerich, J.E., Charles, M.A., Grodsky, S.M.: Regulation of pancreatic insulin and glucagon. Ann. Rev. Physiol. 36:336-353, 1977.
- Gjedde, A., Hansen, A.J., Siemkowicz, E.: Simultaneous determination of regional blood flow and blood-brain glucose transfer in brain of rat. Acta Physiol. Scand. 108:321-330, 1980.
- Goodner, Ch.J., Hom, F.G., Berry, M.A.: Investigation of the effect of insulin upon regional brain glucose metabolism in rat in vivo. Endocrinol. 107:1827-1832, 1980.
- Gray, H.: Anatomy, Descriptive and Surgical. Crown Pub. Inc. N.Y. p:749-753, 1977.

- Grayson, J.; Mendel, D.: Observation of vascular and metabolic responses in the brain after administration of insulin and glucose. J. Physiol. 154:26-28, 1960.
- Havrančova : Nature 272:827-829, 1978.
- Hawkins, R.A., Miller, A.L., Kremer, J.E., Veech, R.L.: Measurement of glucose utilization by rat brain in vivo. J. Neurochem. 23:917-923, 1974.
- Hothersall, J.S., Baquer, N.Z., Greenbaum, A.L., McLean, P.: Alternative pathways of glucose utilization in brain. Changes in the pattern of glucose utilization in brain during development and the effect of phenazine methosulfate on the integration of metabolic routes. Arch. Biochem. Biophys. 198:478-492, 1979.
- Houssay, B.A., Biassoti, A.: The hypophysis carbohydrate metabolism and diabetes. Endocrinology 15:511-520, 1931.
- Houssay, B.A., Magenta, M.A.: Sensibilidad de los perros hipofisoprivos a la insulina. Rev. Soc. Med. Argent. 37:389, 1924.
- Huggins, A.K., Ottaway, H.: Separation of a peptide with insulin like properties from preparations of ox growth hormone. Biochem. J. 74:23P, 1960.
- Kaneto, A., Kosaka, K., Nakao, K.: Effects of stimulation of the vagus nerve on insulin secretion. Endocrinology 80:530-535, 1967.
- Kotlyar, B.J.: Hypothalamic glucoreceptors: the phenomenon of plasticity. Physiol. Behav. 7:609-615, 1971.
- Lautala, P., Martin, J.M.: Glucose metabolism in rat hypothalamus. Acta Endocrinologica 98:481-487, 1981.
- LéFebvre: J. Gen. Physiol. 31:505, 1948.
- Libman, L.J., Sutherland, S.D.: An investigation into the intrinsic innervation of the pancreas. J. Anat. 99:420-421, 1965.
- Lund-Andersen, H.: Transport of glucose from blood to brain. Physiological Reviews 59(2):305-352, 1979.
- Margolis, R.U., Altzuler, N.: Insulin in the cerebrospinal fluid Nature 215:1375-1376, 1967.
- Martin, J., Mok, C., Penfold, J., Howard, N., Cowne, T.: Hypothalamic stimulation of insulin release, J. Neurocr. 28:681-682, 1973.

- McCandless, D.W.: Insulin-induced hypoglycemic coma and regional cerebral energy metabolism. Brain Research 215:225-233, 1981.
- Meis, G., Niebuhr, I., Hossman, K.A.: Simultaneous measurement of blood flow and glucose metabolism by autoradiographic techniques. Stroke 12(5):581-588, 1981.
- Oldendorf, W.H.: Brain uptake of radiolabelled aminoacids, amines and hexoses after arterial injection. Am.J.Physiol. 221:1629-1639, 1971.
- Porte, D.(Jr), Woods, S., Chen, M., Smith, P., Ensink, J.: Central factors in the control of insulin and glucagon secretion. Pharmacol.Biochem.Behav. 3:127-133, 1975.
- Rapaport, S.J., Ohata, M., London, E.D.: Cerebral blood flow and glucose utilization following opening of the blood-brain barrier and during maturation of the rat brain. Federation Proc. 40:2322-2325, 1981.
- Ratcheson, R.A., Blank, A.C., Ferendelli, J.A.: Regionally selective metabolic effects of hypoglycemia in brain. J.Neurochem 36(6):1952-1958, 1981.
- Richins, C.A.: The innervation of the pancreas. J.Comp.Neurol. 83:223-236, 1945.
- Ruderman, N.B., Goodman, N.M.: Brain metabolism in diabetes. Horm.Metab.Res. (Suppl.) 9:1-8, 1980.
- Samson, F.E., Balfour, W.M., Dahl, N.A.: Rate of cerebral ATP utilization in rats. Am.J.Physiol. 198(1):213-216, 1960.
- Sapirstein, Hanusek: Cerebral Blood flow in rats. Am.J.Physiol. 193:272-274, 1958.
- Savaki, H.E., Davidsen, L., Smith, C., Sokoloff, L.: Measurement of free glucose turnover in brain. J.Neurochem. 35(2):495-502, 1980.
- Shenkin, H.A., Novack, P.: The control of the cerebral circulation. J.A.M.A. 178:390-393, 1961.
- Snedecor, G.W., Cochran, W.G.: Statistical Methods. séptima edición, Iowa State Univ. Press, U.S.A. 1980.
- Sokoloff, L.: The F.O. Schmitt Lecture in Neuroscience 1980. The relationship between function and energy metabolism:

- its use in the localization of functional activity in the nervous system. Neurosci.Res. Program Bull. 19(2):159-207, 1981.
- Sokoloff,L., Rievich,M., Kennedy,C., DesRosiers,M.H., Patlak, C.S., Pettigrew,K.D., Sakurada,O., Shinchara,M.: The 14C deoxiglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure and normal values in the conscious and anesthetized rat. J.Neurochem. 28: 897-916, 1977.
- Szabo,O., Szabo,A.: Studies on the nature and mode of action of the insulin-sensitive glucoregulator receptor in the central nervous system. Diabetes, 24:328-336, 1975a.
- Szabo,A., Szabo,O.: Influence of the insulin sensitive central nervous system glucoregulator receptor on hepatic glucose metabolism. J.Physiol. 253:121-133, 1975b.
- Szabo,O., Szabo,A.: Evidence for an insulin-sensitive receptor in the central nervous system. Am.J.Physiol. 223:1349-1353, 1972.
- Tomkin,C.H., Moore,J.: Assessment of a new rapid method for the measurement of blood sugar. J.Irish Med.Assoc. 70(16) 490-493, 1977.
- Unger,R.H., Dobbs,R.E., Oeci,L.: Insulin, glucagon and somatostatin secretion in the regulation of metabolism. Ann.Rev. Physiol. 40:307-343, 1978.
- Van Houten,M., Posner, B.I.: Insulin binds to brain blood vessels in vivo. Nature 282:623-625, 1979.
- vonMering,J., Ninkowsky,O.: Diabetes Mellitus inach Pancreasextirpation. J.Exper.Path.Pharmakol. 26:371, 1889.
- Vrba,R.: Glucose metabolism in rat brain in vivo. Nature, 4842 663-665, 1962.
- Wolff,P.H., Tschirgi,R.D.: Inability of the cerebrospinal fluid to nourish the spinal cord. Am.J.Physiol. 184:220-222, 1956.
- Woods,S.C.: Conditioned hypoglycemia: effect of vagotomy and pharmacological blockade. Am.J.Physiol. 223:1424-1427, 1972.

- Woods, S.C., Alexander, K.R., Porte, D. (jr): Conditioned insulin secretion and hypoglycemia following repeated injections of tolbutamide in rats. Endocrinol. 90:227, 1972.
- Woods, S., Hutton, R., Makous, W.: Conditioned insulin secretion in the albino rat. Proc.Soc.Exper.Biol.Med. 133:964-968, 1970.
- Woods, S.C., Porte, D. (Jr): Neural control of endocrine pancreas. Physiological Reviews 34(3): 596-619, 1974.
- Yudilevich, D.L., De Rose, N.: Blood-brain transfer of glucose and other molecules. Am.J.Physiol. 220:841-846, 1971.