



03086  
1  
24

# Universidad Nacional Autónoma de México

Colegio de Ciencias y Humanidades  
Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado  
Instituto de Investigaciones Biomédicas

## LOS ERITROBLASTOS Y LA HOMEOSTASIS DE LA GLUCOSA EN LA RATA FETAL

Importancia para el mantenimiento del gradiente de la  
concentración de glucosa entre la sangre materna y la fetal.

# T E S I S

Que para optar al Grado de:  
DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS  
p r e s e n t a

VERONICA GUARNER LANS

México, D. F.



1989



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.

## RESUMEN

Los eritrocitos de muchos mamíferos, además de intervenir en el transporte de oxígeno y bióxido de carbono, participan en el transporte de glucosa a todas las células del organismo. Estas células compensan los cambios en la concentración de glucosa en plasma, absorbiendo este carbohidrato e incorporándolo a sus reservas de glucógeno cuando se encuentra en exceso y liberándolo cuando su concentración es baja. La adrenalina hace que los eritrocitos se comporten como hepatocitos circulantes, haciendo que liberen glucosa de sus reservas de glucógeno independientemente de la glucemia. La insulina no modifica la función compensadora de los eritrocitos, de manera que éstos no compiten con otros grupos celulares cuando la insulina incrementa su consumo de glucosa.

Los glóbulos rojos fetales contiene un mayor número de receptores de glucosa en sus membranas que los eritrocitos adultos en todas las especies; sin embargo, su función en el organismo en desarrollo, se desconoce. En el presente trabajo se analizó la capacidad de los eritroblastos fetales de la rata para regular los aumentos en la concentración de glucosa en el plasma, manteniendo el gradiente de la concentración de glucosa entre la sangre materna y la fetal.

Se encontró que la concentración de glucosa en plasma y en el interior de los eritroblastos se incrementa durante el período fetal. La concentración de glucosa en los eritroblastos fue mayor que en el plasma. La concentración de glucógeno en los eritroblastos fetales fue mayor que la de los eritrocitos adultos. Fue alta al principio del período fetal y al final de este y tendió a disminuir a la mitad de la gestación.

En experimentos *in vitro*, se observó que los eritroblastos absorben mayor cantidad de glucosa del medio, cuando se les incubaba en presencia de altas concentraciones de este carbohidrato al principio del período fetal, y que esta capacidad disminuye conforme avanza el desarrollo. La concentración de glucosa y glucógeno en el interior de los eritroblastos se incrementó cuando estas células fueron incubadas en altas concentraciones de glucosa y la concentración de glucógeno alcanzada fue mayor al principio del período fetal que al final de éste.

Los experimentos *in vivo*, en los que se inyectó glucosa a los fetos mostraron que los eritroblastos compensan los aumentos en la concentración de glucosa en el plasma desde el comienzo del período fetal. Hacia el final de éste, se establecen otros mecanismos más eficaces para controlar la glucemia, como el establecimiento de una reserva general de carbohidratos en el hígado, y el mecanismo primitivo de compensación dado por los eritroblastos tiende a perder su importancia.

La adrenalina hace que los eritroblastos del día 21 de la gestación disminuyan sus reservas de glucógeno, aún en hiperglucemia, y que se comporten como hepatocitos circulantes. En los días 17 y 19 de la gestación la adrenalina no produjo cambios en la glucemia ni en las concentraciones de glucosa y glucógeno de los eritroblastos. La insulina no modifica la respuesta de los eritroblastos a cambios en la concentración de glucosa en el plasma en ninguna de las edades fetales estudiadas, impidiendo que estas células absorban la glucosa cuando actúa para incrementar su consumo por otros tejidos.

Es posible que la capacidad de los eritroblastos para compensar aumentos en la glucemia facilite el transporte de glucosa hacia la sangre fetal en la placenta, al incrementar el espacio en el que se puede disolver este carbohidrato. Es posible también, que dicha propiedad haga que los eritroblastos intervengan de una manera importante en la homeostasis de la glucosa durante el período fetal, sobre todo en la primera mitad de éste, en la que el hígado aún no se ha definido funcionalmente como almacén general de glucosa.

## INDICE

<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>Los eritrocitos y la homeostasis de la glucosa en los organismos adultos.....</b>	<b>4</b>
Eritropoyesis en los organismos adultos.....	4
Permeabilidad de los eritrocitos adultos a la glucosa.....	7
Metabolismo de la glucosa en los eritrocitos adultos.....	10
Papel de los eritrocitos adultos en la homeostasis de la glucosa.....	12
<b>Los eritroblastos y la homeostasis de la glucosa durante el periodo fetal.....</b>	<b>20</b>
Eritropoyesis durante el periodo fetal.....	20
Permeabilidad de los eritroblastos fetales a la glucosa.....	23
Papel de los eritroblastos en la homeostasis de la glucosa durante el periodo fetal.....	25
<b>METODOS.....</b>	<b>30</b>
Animales experimentales.....	30
Procedimiento quirúrgico y obtención de la sangre fetal...31	
Variaciones en la concentración de glucosa en plasma y en el contenido de glucosa y glucógeno en los eritroblastos durante el periodo fetal de la rata.....	32
Determinación de la capacidad de los eritroblastos de distintas edades fetales para compensar los aumentos en la concentración de glucosa en el plasma.....	32
Efectos de la glucosa, la adrenalina y la insulina sobre los eritroblastos fetales y su papel en la homeostasis de la glucosa.....	34
Determinación de glucosa y glucógeno.....	35

<b>ANALISIS DE RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
Variaciones en la concentración de glucosa en plasma y en el contenido de glucosa y glucógeno en los eritroblastos durante el periodo fetal de la rata.....	36
Concentración de glucosa en plasma.....	36
Concentración de glucosa en los eritroblastos.....	40
Concentración de glucógeno en los eritroblastos...	40
Comparación de las reservas de glucosa y glucógeno en los eritroblastos y en el hígado.....	43
Determinación de la capacidad de los eritroblastos de distintas edades fetales para compensar los aumentos en la concentración de glucosa en plasma.....	46
Efectos de la glucosa, la adrenalina y la insulina sobre la capacidad de los eritroblastos para compensar los cambios en la concentración de glucosa en el plasma.....	54
Efectos de la glucosa.....	54
Efectos de la adrenalina.....	57
Efectos de la insulina.....	59
<b>DISCUSION.....</b>	<b>60</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>70</b>
<b>APENDICE.-Determinación de la capacidad de los eritroblastos de distintas edades fetales para compensar disminuciones en la concentración de glucosa en el plasma.....</b>	<b>77</b>

## INTRODUCCION

La función más conocida de los eritrocitos es el transporte de algunos de los elementos que intervienen en la respiración celular que proporciona la energía indispensable para mantener la vida. La presencia de los glóbulos rojos en la sangre permite que ésta contenga setenta veces más oxígeno que el que se disuelve en el plasma, ya que estas células sintetizan la hemoglobina y regulan la afinidad de esta molécula por el oxígeno (Ganong, 1975).

Asimismo, la existencia de los eritrocitos hace que aumente diecisiete veces el transporte de dióxido de carbono por la sangre, puesto que en su interior se encuentran enzimas como la anhidrasa carbónica, que catalizan las reacciones químicas por medio de las cuales este gas pasa a formas hidratadas como el ácido carbónico, que en esta forma se disuelve más fácilmente y en mayor cantidad en el plasma (Ganong, 1975).

Aunque se conoce el papel de los eritrocitos en el transporte de oxígeno y dióxido de carbono, su función en el transporte de glucosa ha sido poco estudiada. La glucosa es el compuesto que se emplea más frecuentemente como sustrato inicial de las reacciones respiratorias generadoras de la energía celular y el requerimiento de glucosa por las células es vital y crítico en el tiempo. Los resultados obtenidos hasta la fecha sobre el transporte de glucosa por los glóbulos rojos indican que podrían jugar un papel importante en su transporte a las distintas regiones del organismo y, en el mantenimiento de niveles constantes de este carbohidrato en el medio interno.

Existen evidencias de que los eritrocitos tienen una enorme capacidad para transportar glucosa del medio que los rodea al interior celular. Se han encontrado receptores de glucosa tanto en la cara interna como en la externa de las membranas de los glóbulos rojos humanos (Foster y cols., 1979; Fróman y cols., 1980; Jacquez, 1984), y se ha descrito que el sistema de transporte de la glucosa no es un sistema de transporte activo, ni uno de difusión facilitada, sino un sistema equilibrador cuyas cinéticas de influjo y eflujo no son simétricas (Baldwin y cols., 1981; Mahatma y Thomas, 1979; Holman, 1980; Wheeler y Hinkle, 1981; Jacquez, 1984). Se conoce además que estas células normalmente transportan doce mil veces más glucosa a través de su membrana que la que requieren para su uso metabólico (Widdas, 1953; Jacquez, 1984).

Por otra parte, parece que los eritrocitos también intervienen en el transporte de glucosa a distintos órganos y tejidos. Se ha encontrado que los eritrocitos de algunas especies como el ser humano, el macaco y la rata almacenan glucógeno y que este carbohidrato se encuentra en mayor cantidad en los animales jóvenes que en los adultos (Van Hoof, 1967; Guarner y Alvarez-Buylla, 1989). Recientemente se ha demostrado también que los glóbulos rojos de la rata adulta compensan los cambios en la concentración de glucosa en el plasma, absorbiendo este carbohidrato e incorporándolo a sus reservas de glucógeno cuando se encuentra en exceso y liberando pequeñas cantidades de glucosa, cuando su concentración es baja (Guarner y Alvarez-Buylla, 1989). Se ha observado que la adrenalina evita la

función compensadora de los glóbulos rojos y hace que actúen como hepatocitos circulantes, liberando glucosa de sus reservas de glucógeno, independientemente de los niveles de la glucemia. Se ha encontrado también que la insulina no aumenta la absorción de glucosa por los eritrocitos, lo que impide que compitan con otros grupos celulares cuando la insulina incrementa la absorción de glucosa (Guarner y Alvarez-Buylla, 1989).

Los eritroblastos fetales de todos los mamíferos estudiados, excepto el gato, son permeables a la glucosa y contienen, en sus membranas, un mayor número de receptores a este carbohidrato que los glóbulos rojos de los animales adultos (Hitchcock, 1949; Goodwin, 1954; Widdas, 1955; Kondo y Beutler, 1980; Jacquez, 1984). De hecho, se ha visto que la existencia de receptores de glucosa en la membrana de los eritrocitos es una característica de la sangre fetal que tiende a perderse en la vida adulta.

Esta propiedad de las membranas de los glóbulos rojos fetales de contener un mayor número de moléculas transportadoras de glucosa que los eritrocitos adultos, podría permitirles compensar los aumentos en la glucemia. Por lo tanto, los eritroblastos podrían facilitar el transporte de glucosa hacia la sangre fetal en la placenta, al aumentar el espacio en el que se puede disolver este carbohidrato e intervenir de manera importante en la homeostasis de la glucosa durante el período fetal. En el presente trabajo se estudia si la existencia de un mayor número de receptores de glucosa en los eritroblastos se acompaña de un incremento en la capacidad de estas células para compensar los aumentos en la concentración de glucosa en el plasma, y si esta propiedad de los eritroblastos se encuentra

regulada hormonalmente. Se postula una participación importante de los eritroblastos fetales en la regulación de los aumentos en la glucemia, principalmente antes de que se establezcan los mecanismos hepáticos y hormonales del adulto. Por lo tanto, en este trabajo se da un significado funcional a la existencia de un gran número de moléculas transportadoras de glucosa en las membranas de los eritroblastos. Se propone a esta característica como un mecanismo primitivo encargado de mantener el gradiente de la concentración de glucosa entre la sangre materna y la fetal, facilitando la llegada de glucosa al feto.

#### Los eritrocitos y la homeostasis de la glucosa en los organismos adultos.

Es posible que los eritrocitos intervengan en la homeostasis de la glucosa de manera muy importante, por lo menos en algunas especies como la rata, el mono y el humano, debido a que contienen receptores a la glucosa en sus membranas y a que amortiguan los cambios en la concentración de glucosa en el plasma.

#### Eritropoyesis en los organismos adultos

Todas las células sanguíneas, incluyendo a los eritrocitos, derivan de una célula troncal pluripotencial con capacidad de autorreplicarse. La diferenciación hacia cada uno de los grupos celulares está regulada por sustancias inductoras e inhibidoras que aún no son bien conocidas. Entre éstas se pueden citar la

trombopoyetina y las hormonas mielopoyéticas que comprometen a la célula troncal a convertirse en megacariocitos y plaquetas; la neutropoyetina, que actúa en la formación de monocitos y granulocitos y la eritropoyetina que interviene en la formación de eritrocitos. La eritropoyetina es una glucoproteína, cuyo peso molecular fluctúa entre 35,000 y 70,000 daltones. Su origen podría ser renal, aunque también se ha sugerido que estos órganos liberan un factor eritropoyético que activa a una proteína inactiva del plasma para que produzca la eritropoyetina (Erslev, 1972; Guesenberry y Levit, 1979; Nienhuis y Benz, 1977). El estímulo principal para la producción de eritropoyetina es la hipoxia, aunque se ha visto que los andrógenos también juegan un papel importante. Cabe señalar aquí, que la tiroxina, los glucocorticoides y extractos hipotalámicos que contienen ACTH y TSH estimulan la eritropoyesis (Greer y Solomon, 1974).

En la formación de los eritrocitos, la célula troncal pluripotencial origina al primer grupo de células comprometidas, denominadas unidades de colonias explosivas que responden a altas dosis de eritropoyetina. Estas células dan lugar a las unidades formadoras de colonias que responden a menores dosis de eritropoyetina. Estos dos grupos de colonias no han podido ser bien caracterizados morfológicamente. A partir de las unidades formadoras de colonias se inicia un proceso de maduración en el que las células comprometidas sintetizan y acumulan gran cantidad de hemoglobina. Estas células dan lugar a los proeritroblastos, que ya sintetizan glucógeno y que tienen un gran núcleo, varios nucleolos y un pequeño halo de citoplasma basófilo en el que la

hemoglobina aún es escasa y el hierro se acumula en forma de ferritina. Los proeritroblastos originan a los normoblastos, que se dividen en basófilos, policromatófilos y acidófilos u ortocromáticos según su grado de maduración que consiste en una disminución en el tamaño del núcleo por compresión de la cromatina y un aumento en la concentración de hemoglobina, que provoca cambios en la tinción que adquieren. A partir de los normoblastos se forman los reticulocitos que son los precursores inmediatos de los eritrocitos. Estas células carecen de núcleo, tienen una forma irregular, son mayores en tamaño que los eritrocitos y presentan un aspecto reticulado debido a que contienen una gran cantidad de mitocondrias y polirribosomas (Rapaport, 1971; Erslev, 1972; Lessin y Bessis, 1972; Harris y Kellermayer, 1972; Nienhuis y Boriz, 1977) (figura 1).

La unidad anatómica en la que se forman los eritrocitos es la "isla eritroblástica" de la médula ósea, que consiste de una o dos células reticulares centrales sobre las cuales se agrupan normoblastos de todos los estados de maduración. Las células inmaduras, precursoras de los eritrocitos permanecen en contacto con la célula reticular o sus prolongaciones durante todo el desarrollo. Las células reticulares no son pasivas; contienen almacenes de hierro en forma de ferritina que adquieren al ingerir y destruir los núcleos y parte del citoplasma que los normoblastos expulsan al salir a la circulación y al ingerir los eritrocitos viejos o lesionados. Las células reticulares proporcionan hierro a los eritrocitos en formación (Rapaport, 1971; Lessin y Bessis, 1972; Harris y Kellermayer, 1972).

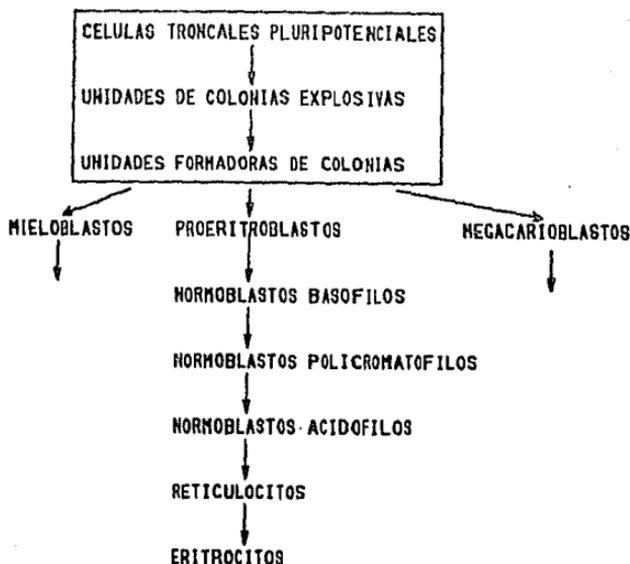


FIGURA 1 Proceso de maduración de los eritrocitos

**Permeabilidad de los eritrocitos adultos a la glucosa.**

Existe toda una gama en la distribución de glucosa entre los eritrocitos y el plasma en la sangre de los mamíferos (Goodwin, 1954). En los primates y en el ser humano se encuentra igual concentración de glucosa en el interior de los eritrocitos que en el plasma (Goodwin, 1954; Heath y Rose, 1969). En cambio, en los gatos, los cobayos y los conejos, prácticamente no hay glucosa en el interior de los eritrocitos (Widdas, 1955). Se han encontrado condiciones intermedias en la rata, el perro, el caballo y el borrego. Además, existe una gama similar a ésta en la velocidad de transporte de glucosa a través de las membranas de los eritrocitos de las diferentes especies (Wagner y cols., 1984).

Recientemente se ha encontrado que los eritrocitos de la

rata adulta almacenan la glucosa en forma de glucógeno. Aunque la concentración de glucógeno por gramo de eritrocitos es muy baja en comparación con otros tejidos, su contenido al considerar el volumen total de eritrocitos en el organismo, equivale a casi la sexta parte de la reserva de glucógeno en el hígado en esta especie (Guarner y Alvarez-Buylla, 1989). Es posible que en todas aquellas especies en las que los eritrocitos contienen glucosa en su interior también almacenen glucógeno.

En lo que se refiere al mecanismo que permite la entrada de la glucosa del exterior al interior celular, se ha estudiado con bastante detalle la molécula transportadora de la glucosa en la membrana de los eritrocitos de los seres humanos. Esta molécula se ha identificado inmunológicamente (Sogin y Hinkle, 1980) y se ha separado (Fröhman y cols., 1980). Jung y colaboradores (1980) la caracterizaron bioquímicamente y reportaron que es un tetramero protéico formado por subunidades de 50,000 daltones.

Se ha calculado que existen  $3 \times 10^5$  moléculas transportadoras de glucosa en la membrana de cada eritrocito humano (Lin y Spudich, 1974), en tanto que sólo hay 200 bombas de sodio y potasio por célula (Hoffman, 1969). Zoccoli y colaboradores (1978) calcularon que alrededor de 3.5% de las proteínas de las membranas de los eritrocitos humanos son moléculas transportadoras de glucosa. Por otra parte, se describió que las moléculas transportadoras de glucosa no sólo se encuentran en la cara externa de la membrana del eritrocito, sino que se localizan también en la cara interna (Foster y cols., 1979).

Se ha descrito que el transporte de glucosa en la membrana

del eritrocito humano no es por difusión facilitada ni por un proceso de transporte activo, sino que consiste en un sistema equilibrador, capaz de transportar glucosa en contra de un gradiente de concentración o a favor de éste y que requiere de alguna fuente de energía (Mahatma y Thomas, 1979; Jacquez, 1984). Se estudió la cinética del transportador de glucosa encontrando que el influjo y el eflujo no son simétricos (Baldwin y cols., 1981; Auby y Widdas, 1980; Wheeler y Hinkle, 1981; Jacquez, 1984). La fórmula que describe mejor la cinética de un sistema equilibrador asimétrico como el de los eritrocitos en el equilibrio es la siguiente:

$$J = \frac{a V_{max} K_m (c_1 - c_2)}{(c_1 + K_m) (c_2 + a K_m)}$$

donde:

a = factor de asimetría

V<sub>max</sub> = velocidad máxima de transporte

K<sub>m</sub> = concentración de glucosa en la que la mitad de los transportadores para el influjo se encuentran ocupados

a K<sub>m</sub> = concentración de glucosa en la que la mitad de los transportadores para el eflujo se encuentran ocupados

c<sub>1</sub> y c<sub>2</sub> = concentraciones de glucosa en el interior y exterior celular

Los valores que se obtienen de esta ecuación para los glóbulos rojos humanos, sugieren que la tasa de transporte es suficientemente rápida para seguir los cambios en la concentración de glucosa en el plasma mientras estas células atraviesan los capilares, aunque no suficientemente rápida para llegar a un equilibrio con el plasma (Jacquez, 1984). Finalmente, se propusieron diversos modelos matemáticos para tratar de explicar el comportamiento de los transportadores de

glucosa en los eritrocitos humanos (Holman, 1980).

#### Metabolismo de la glucosa en los eritrocitos adultos.

El eritrocito maduro no contiene mitocondrias y depende únicamente de la energía que le proporciona la glucólisis anaerobia para subsistir en la circulación (Rapaport, 1971; Harris y Kellermayer, 1972). La tasa metabólica del eritrocito humano es de 1.1 mmol de glucosa/h/l y varía entre 0.5 y 2.5 mmol/h/l en otras especies (Jacquez, 1984).

La vía glucolítica principal del glóbulo rojo es la vía de Embden-Meyerhof, en la que se metaboliza el 90% de la glucosa utilizada por estas células. Consiste en una serie de reacciones por las cuales una molécula de glucosa es convertida en dos moléculas de piruvato o lactato. Esto proporciona energía en forma de trifosfato de adenosina (ATP) y genera dipiridina fosfato reducida (NADH). El ATP abastece la energía que se requiere para mantener la vida del glóbulo rojo. La NADH se requiere para reducir la metahemoglobina, hemoglobina cuyo ion ferroso ha sido oxidado convirtiéndose en férrico, y no puede transportar oxígeno (Rapaport, 1971).

Aproximadamente el 10% restante de la glucosa utilizada por los eritrocitos entra a la vía de las pentosas, que es una vía aeróbica en la que se produce tripiridina nucleótido reducida (NADPH). Esta molécula la utilizan los glóbulos rojos para reducir el glutatión, que sirve como un reservorio de poder reductor para proteger a la hemoglobina de la desnaturalización oxidativa producida por el peróxido de hidrógeno (Rapaport,

1971).

Existe una tercera ruta para la oxidación de la glucosa en los eritrocitos que es la vía del 2-3 difosfoglicerato (2-3 DPG). Esta vía permite que el 1-3 difosfoglicerato (1-3 DPG) se convierta en 2-3 DPG, que es un regulador importante de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y facilita la liberación de este gas en los tejidos (Rapaport, 1971).

Se ha descrito que los eritrocitos del ser humano y de la rata además de utilizar la glucosa, la pueden almacenar en forma de glucógeno (Van Hoof, 1967; Guarnier y Alvarez-Buylla, 1986) y se ha encontrado que en algunas enfermedades metabólicas como las glucogenosis, la concentración de glucógeno en los eritrocitos se encuentra elevada y que la actividad de la amilo, 1-6 glucosidasa, que degrada este carbohidrato es baja (Van Hoof, 1967).

En cuanto a los factores hormonales que pueden modificar el metabolismo de la glucosa por los eritrocitos, se ha encontrado que éstos tienen receptores a adrenalina del tipo beta 2 en sus membranas (Beckman y Hollenberg, 1979). La adrenalina modifica el metabolismo de los eritrocitos; inhibe el último paso de la glucólisis, disminuyendo la producción de ATP y hace que se acumulen las moléculas intermediarias de la vía glucolítica que entran entonces a la vía del 2-3 DPG. Este cambio en el metabolismo hace que en condiciones de estrés, la adrenalina actúe sobre los eritrocitos para que liberen más oxígeno a los tejidos (Mairbäuri y Humpeler, 1981). Se ha descrito que los reticulocitos tienen receptores a insulina; sin embargo, éstos se

pierden en el eritrocito maduro (Thomopoulos y cols., 1978; Eng y cols., 1980). Las hormonas tiroideas disminuyen la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno al incrementar la concentración del 2-3 DPG (Greer y Solomon, 1974)

#### Papel de los eritrocitos adultos en la homeostasis de la glucosa.

Como todos los componentes del medio interno de los organismos, la cantidad de glucosa en la sangre está sujeta a sistemas de control. Algunos de estos sistemas regulan la adquisición de glucosa a partir del medio externo que rodea al organismo. Los glucostatos de los núcleos laterales del hipotálamo que estimulan la ingestión de alimento, y los glucostatos del núcleo medio que hacen que los animales dejen de comer, son parte importante de los sistemas de control que regulan la adquisición de glucosa (Brooks y Koizumi, 1980). Se ha encontrado que la aplicación iontoforética de glucosa a neuronas del núcleo ventromedial del hipotálamo incrementa su tasa de disparo (Oomura y cols., 1964 y 1969) Las neuronas del núcleo lateral son osmorreceptores que responden tanto a la glucosa como al sodio (Oomura y cols., 1969)

Además de los sistemas de control que regulan la adquisición de glucosa del medio externo, existen otros que controlan la utilización de glucosa por los distintos tejidos que constituyen al organismo, para la producción de energía mediante la respiración celular y para la síntesis. Estos sistemas logran su función regulando el almacenamiento o liberación de glucosa a partir de las reservas de carbohidratos que se establecen en

distintos órganos como el hígado, el músculo esquelético y los eritrocitos.

El almacén más importante de glucosa en los vertebrados es el hígado. Este órgano acumula la glucosa en forma de glucógeno que es degradado para beneficio de otros órganos, pues la glucosa no es la fuente principal de energía usada por los hepatocitos, sino los ácidos grasos (Hers, 1976). Aunque también se encuentra glucógeno en otros órganos y tejidos como el músculo esquelético, su función en ellos es sólo para proveer energía localmente cuando la glucosa o el oxígeno son escasos (Hers, 1976).

Recientemente se ha encontrado que los eritrocitos también actúan como almacenes de glucosa. Estas células transportan 12,000 veces más glucosa de la que requieren para su uso metabólico (Jacquez, 1984) y almacenan glucógeno (Van Hoof, 1967; Guarner y Alvarez-Buylla, 1989). Se ha observado que los glóbulos rojos compensan los cambios en la concentración de glucosa en plasma, absorbiendo este carbohidrato e incorporándolo a sus reservas de glucógeno cuando se encuentra en exceso, y liberando pequeñas cantidades de glucosa cuando su concentración es baja (figuras 2 y 3) (Guarner y Alvarez-Buylla, 1989).

Los sistemas de control que regulan la utilización y el almacenamiento de glucosa por los distintos órganos constan de componentes aferentes y eferentes que se encuentran integrados por el sistema nervioso. Entre los componentes aferentes de los sistemas de control que regulan el almacenamiento de glucógeno en el hígado y la liberación de glucosa al medio interno, se pueden mencionar los receptores glucosensibles del área hipotalámica (Kotlyar, 1971). También algunos receptores periféricos como los

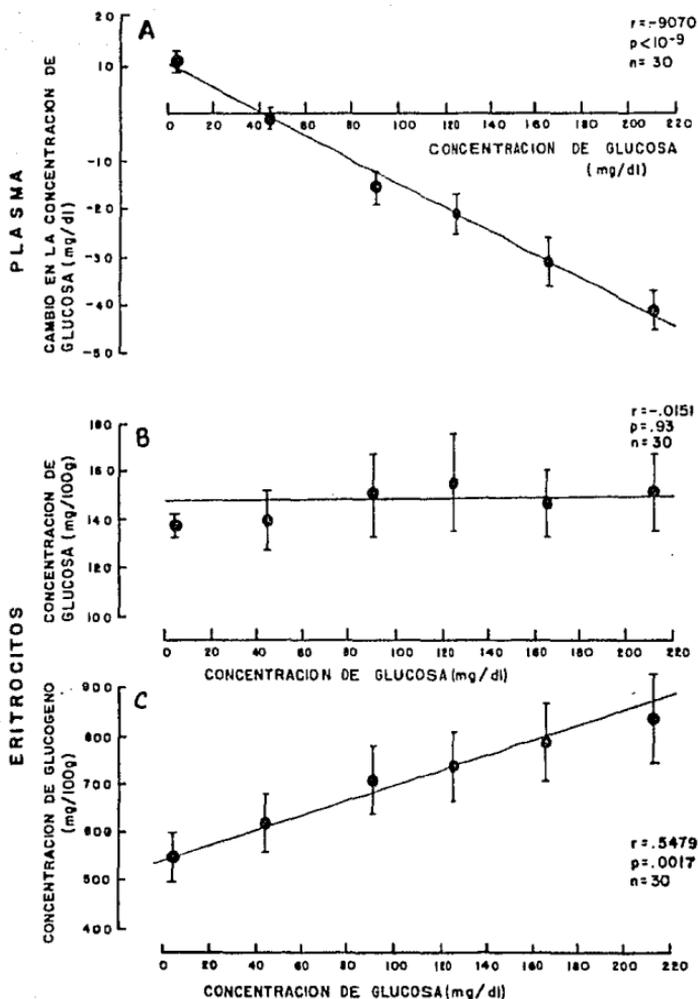


FIGURA 2 Capacidad de los eritrocitos para compensar los cambios en la concentración de glucosa en el plasma. A) En el eje horizontal se grafican las concentraciones de glucosa que contenían distintas soluciones salinas con las que se substituyó el plasma a diferentes muestras de sangre; en el eje vertical los cambios en esta concentración después de incubar las muestras durante 15 minutos en un baño de temperatura constante. Cuando la concentración de glucosa en el medio es baja los eritrocitos liberan este carbohidrato y cuando es alta, lo absorben. B) Concentración de glucosa en el interior de los eritrocitos después del periodo de incubación. C) Concentración de glucógeno que se eleva al incubar los eritrocitos en concentraciones elevadas de glucosa.  $r$ : coeficiente de correlación,  $p$ : probabilidad del ajuste,  $n$ : numero de determinaciones.  $X \pm e.e.$



quimiorreceptores del seno carotídeo y del glomus aórtico son sensibles a los cambios en la concentración de glucosa y se ha descrito que su estimulación provoca hiperglucemia causada por la secreción de adrenalina que actúa sobre el hígado, haciendo que este libere glucosa (Alvarez-Buylla, 1981; Alvarez-Buylla y Alvarez-Buylla, 1988). La estimulación de estos receptores también hace que las reservas de glucógeno en los eritrocitos disminuyan (figura 4) (Guarner y Alvarez-Buylla, 1989). Por otro lado, se ha descubierto la existencia de receptores glucorreguladores sensibles a la insulina tanto en el sistema nervioso central (Szabo y Szabo, 1972, 1975a y 1975b), como periféricos, localizados en la región que irriga la arteria pancreático-duodenal (Alvarez-Buylla y cols., 1961; Alvarez-Buylla y Bencosme, 1981).

Se ha descrito el papel de por lo menos cinco hormonas que constituyen la parte eferente de los sistemas de control que regulan la glucemia. La insulina aumenta el transporte de glucosa a nivel de la membrana celular de los adipocitos y del tejido muscular e incrementa la captación de glucosa por los hepatocitos. Estos efectos hacen que la concentración de glucosa en la sangre disminuya (Hers, 1976; Mayes, 1976; Goodman, 1980). La insulina no aumenta la absorción de glucosa por los glóbulos rojos, de manera que éstos no compiten con otros grupos celulares cuando la insulina les incrementa su absorción de glucosa (figura 5) (Guarner y Alvarez-Buylla, 1989).

La adrenalina moviliza la glucosa que se encuentra almacenada en forma de glucógeno hepático y muscular, por lo que aumenta la glucosa sanguínea (Hers, 1976; Mayes, 1976; Goodman,

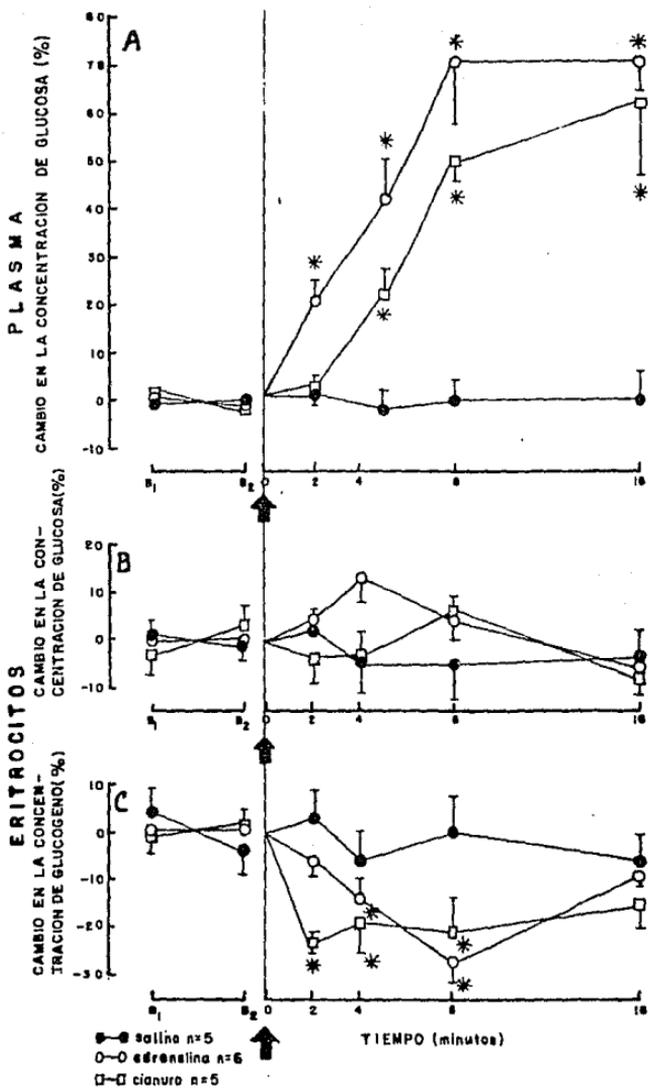


FIGURA 4 Efectos de la inyección de adrenalina y de la estimulación de los quimiorreceptores del seno carotídeo y glomus aórtico, mediante la inyección de una microdosis de cianuro sobre la concentración de glucosa en plasma (A) y sobre las concentraciones de glucosa (B) y glucógeno (C) en los eritrocitos. Se observa que se produce hiperglucemia y que la concentración de glucógeno en los eritrocitos disminuye, de manera que se comportan como hepatocitos circulantes.  $\bar{X} \pm e.e.$ , \*  $p < 0.05$ .

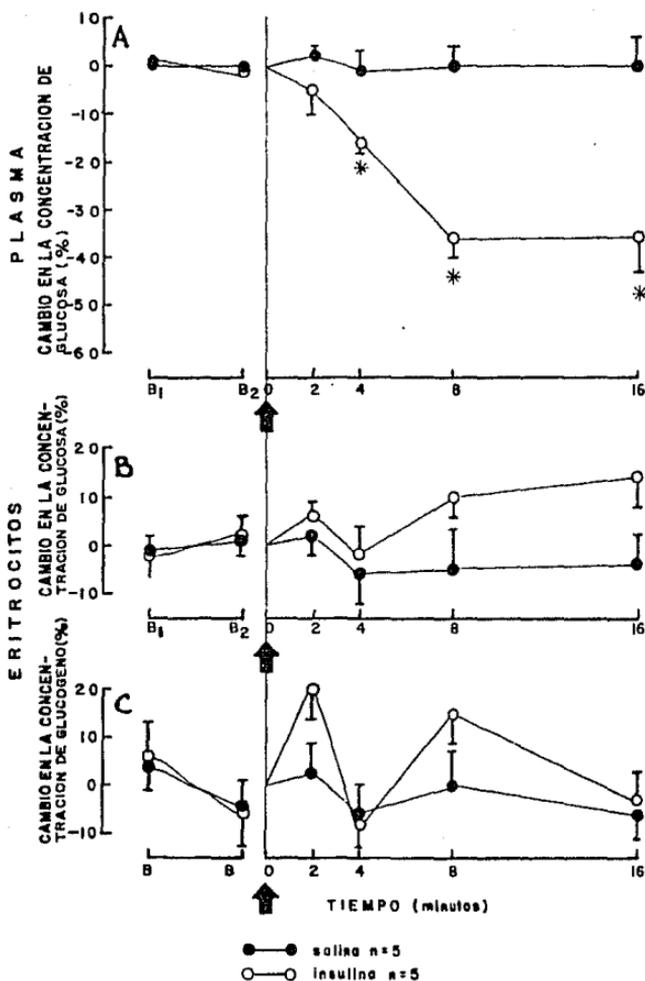


FIGURA 5 Efectos de la inyección de insulina sobre la concentración de glucosa en el plasma (A) y en las concentraciones de glucosa (B) y glucógeno (C) en los eritrocitos. Se observó hipoglucemia pero no hubo cambios significativos en la concentración de glucosa y glucógeno en los eritrocitos.  $\bar{X} \pm e.e.$ , \*  $p < 0.05$ .

1980). Esta hormona hace que los eritrocitos liberen glucosa al medio, actuando como hepatocitos circulantes (figura 4) (Guarner y Alvarez-Buylla, 1989).

Los glucocorticoides inhiben la utilización de glucosa por los tejidos extrahepáticos y facilitan la gluconeogénesis a partir de las proteínas y ácidos grasos, elevando los niveles de glucosa en la sangre (Hers, 1976; Mayes, 1976; Goodman, 1980). El glucagón estimula la conversión de glucógeno hepático a glucosa y facilita su secreción al torrente sanguíneo (Hers, 1976; Mayes, 1976; Goodman, 1980). Las hormonas tiroideas ejercen una acción diabética sobre la glucemia (Mayes, 1976; Goodman, 1980). Los efectos de estas hormonas sobre los eritrocitos se desconocen.

Además existen numerosos péptidos secretados por el sistema nervioso que intervienen en la glucorregulación (Frohman, 1983). Entre ellos, se pueden mencionar la hormona del crecimiento, que disminuye el consumo de glucosa por algunos tejidos como el músculo, y la hormona adrenocorticotrófica que estimula la secreción de glucocorticoides (Mayes, 1976; Goodman, 1980). Se ha descrito también la participación de otro neuropéptido que facilita la absorción de glucosa por las neuronas, ya que la insulina no atraviesa la barrera hematoencefálica (Alvarez-Buylla y Alvarez-Buylla, 1983).

Por otra parte, desde los trabajos de Claude Bernard (1849), se sabe que existe un control central sobre los niveles de glucosa en el medio interno. Se comprobó, por ejemplo, que se pueden establecer reflejos condicionados hipoglucémiantes, al asociar en el tiempo el sonido de un timbre o el olor a menta con

inyecciones de insulina (Alvarez-Buylla y Carrasco-Zanini, 1960; Alvarez-Buylla y Alvarez-Buylla, 1975; Woods, 1972). El sistema nervioso juega también un papel importante en la homeostasis de la glucosa a través de la inervación hepática (Edwards, 1971, 1972) e inervando a las glándulas encargadas de producir las hormonas que intervienen en la glucohomeostasis (Woods y Porte, 1974; Porte y cols., 1975; Ungar y Phillips, 1983) (figura 6).

#### Los eritroblastos y la homeostasis de la glucosa durante el periodo fetal.

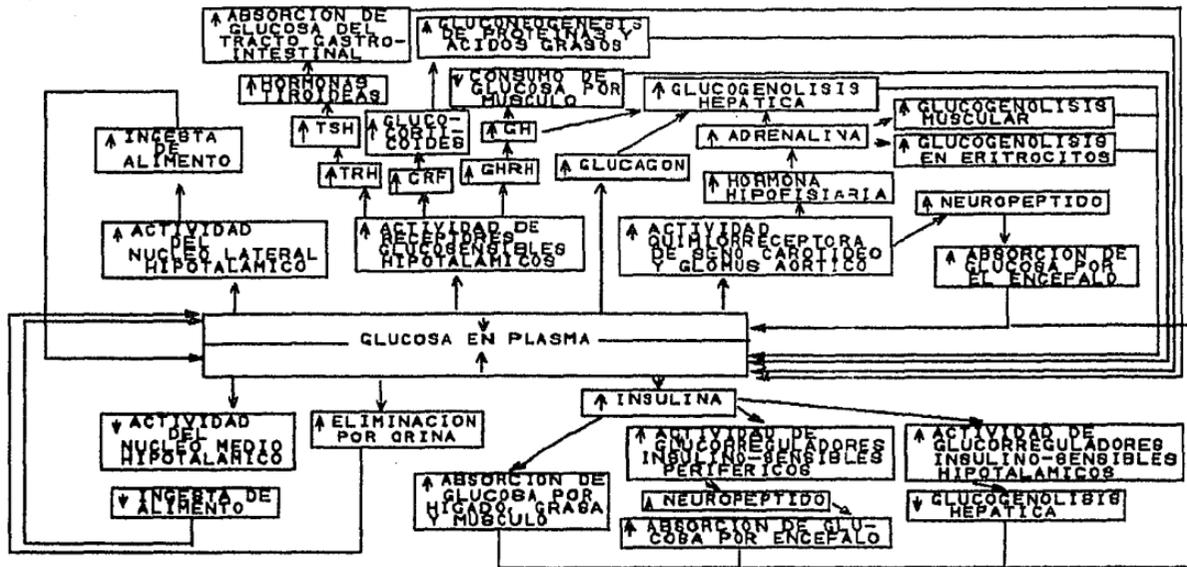
Debido a que los eritroblastos fetales tienen mayor número de receptores a la glucosa en sus membranas que los eritrocitos adultos, es posible que regulen los aumentos en la concentración de glucosa en plasma, lo que facilitaría el transporte de glucosa de la madre al feto, al incrementar el espacio en el que se puede disolver este carbohidrato. En consecuencia, los eritroblastos fetales podrían intervenir de manera importante en la homeostasis de glucosa durante el periodo fetal.

#### Eritropoyesis durante el periodo fetal.

Aunque la médula ósea es el sitio óptimo para la proliferación de los eritrocitos, debido a que las cavidades de los huesos se desarrollan muy tarde en el periodo fetal, otros órganos son los responsables de la producción de células rojas durante este periodo (Erslev, 1972).

Los primeros eritroblastos se forman en la periferia del

MEDIO EXTERNO



MEDIO INTERNO

FIGURA 6 Mecanismo neurohumoral que regula la glucemia

embrión en las islas sanguíneas del saco vitelino. Son células grandes y permanecen nucleadas durante toda su vida funcional. Más tarde son sustituidas por células más pequeñas, no nucleadas que se derivan de la eritropoyesis hepática (Erslev, 1972; Wood, 1976; Biggers, 1980).

En el hígado fetal exclusivamente se forman eritroblastos, mientras que en la médula ósea de los animales adultos también se forman granulocitos y linfocitos (Thomas y cols., 1960; Thomas y Yoffey, 1964). Por lo tanto, durante esta fase de eritropoyesis hepática, la sangre contiene pocos leucocitos (Thomas y Yoffey, 1961; Thomas y Yoffey, 1962). Por otra parte, se ha descrito que en los fetos se producen muchos más eritroblastos por unidad de tiempo durante el periodo de la eritropoyesis hepática, que los que se producen en la médula ósea de los animales adultos (Thomas y Yoffey, 1961). También se ha reportado que el contenido de eritroblastos por unidad de volumen en la sangre fetal, y la concentración de hemoglobina en estas células aumenta durante el desarrollo fetal (Thomas y Yoffey, 1962).

En el hígado fetal los eritroblastos se forman en las trabéculas hepáticas, en íntimo contacto con las células hepáticas. De hecho, existen en estas zonas células con apariencia intermedia entre los precursores de los eritroblastos y los de las células hepáticas (Thomas y cols., 1960; Thomas y Yoffey, 1964). Esto sugiere un origen endodérmico, más que mesodérmico, para los precursores de los eritroblastos hepáticos, al igual que se ha sugerido para los de los eritroblastos del saco vitelino (Thomas y cols., 1960; Thomas y Yoffey, 1964).

Aunque se ha descrito que existe eritropoyesis en el bazo

durante el periodo fetal, es posible que este organo sólo secuestre y destruya células nucleadas provenientes de otros sitios (Rosenberg, 1969; Erslev, 1972).

La fase de producción de glóbulos rojos en el hígado termina antes del nacimiento en algunas especies y aparecen células sanguíneas en la región cartilaginosa de los huesos; poco a poco, las cavidades óseas se van convirtiendo en el sitio principal de producción de eritrocitos (Erslev, 1972).

Durante la vida fetal tardía, el control fisiológico de la producción de glóbulos rojos es la hipoxia y la liberación de eritropoyetina. Se ha observado que cuando hay pérdida de sangre, hipoxia o hemólisis en los fetos o los recién nacidos, se activan focos extramedulares hematopoyéticos en el hígado (Erslev, 1972).

#### Permeabilidad de los eritroblastos fetales a la glucosa.

En contraste con lo que ocurre en la sangre de los mamíferos adultos, la sangre fetal de todos los mamíferos, excepto el gato, contiene una concentración de glucosa aproximadamente igual en el interior de los eritroblastos y en el plasma (Goodwin, 1954; Widdas, 1955). Incluso se ha reportado una mayor concentración de glucosa en el interior de los glóbulos rojos que en el plasma (Hitchcock, 1949).

Se ha observado que durante el desarrollo fetal, ocurre una disminución en la capacidad para transportar glucosa por las membranas de los eritroblastos en la mayoría de las especies de los mamíferos (Goodwin, 1954). Esta disminución coincide con la

desaparición de algunos componentes protéicos de la membrana de los eritroblastos que probablemente correspondan a los transportadores de glucosa (Kondo y Beutler, 1980).

La etapa de la vida durante la cual disminuye la permeabilidad de los glóbulos rojos a la glucosa varía en las distintas especies. En algunas ocurre antes del nacimiento como en el cerdo, en otras después de éste como en el cobayo y el borrego y en otras más, nunca cambia como en el ser humano (Goodwin, 1954).

Algunos autores consideran que el cambio en la permeabilidad de los eritroblastos se debe a que son reemplazados por una nueva población de células adultas. Goodwin y Coombs (1956) describieron que los glóbulos rojos fetales del cerdo no tienen el grupo A de antígenos de superficie que se encuentra en los glóbulos rojos de los adultos de esta especie. Encontraron que la proporción de células rojas que se aglutinan con el suero anti-A aumenta paralelamente al cambio en la distribución de glucosa en la sangre fetal.

Mooney y Young (1978) encontraron que el reemplazamiento de los eritroblastos permeables a la glucosa en el borrego, sigue el mismo curso temporal que la desaparición de la hemoglobina fetal, y que la permeabilidad de los glóbulos rojos a la glucosa es directamente proporcional al contenido de hemoglobina fetal en las células. Estos mismos autores reportaron que paralelamente con la disminución en la permeabilidad a la glucosa en los glóbulos rojos ocurre una disminución en la permeabilidad a la inosina.

La capacidad de transportar glucosa de los eritroblastos

también se ha relacionado con el contenido de potasio en estas células. Se ha sugerido que la glucosa es transportada al interior de los eritroblastos para proporcionar la energía que se requiere para acumular potasio y sacar sodio del interior de las células (Widdas, 1955). En algunas especies como el gato en las que las células rojas no son permeables a la glucosa, el contenido de potasio en los eritrocitos es muy bajo (Widdas, 1955).

#### Papel de los eritroblastos en la homeostasia de la glucosa durante el período fetal.

Aunque se ha descrito en gran parte la evolución ontogenética tanto macroscópica como microscópica de prácticamente todas las estructuras anatómicas que constituyen al organismo en formación, y el papel de numerosas sustancias y hormonas que inducen la diferenciación y la aparición de nuevas propiedades fisiológicas en los tejidos (Jost y Picon, 1970), la evolución ontogenética de los sistemas funcionales encargados de mantener la vida desde que el organismo consta de una sola célula, hasta que lo constituyen millares de ellas, se desconocen en su mayor parte.

Existen muy pocos trabajos donde se describa la evolución de los mecanismos encargados de la homeostasis de la glucosa durante el desarrollo embrionario y no se ha descrito en ninguno de ellos el papel que los eritroblastos pudieran desempeñar en esta función vital.

Recientemente se describió que durante el período fetal de

la rata se pueden distinguir dos etapas con distintas organizaciones funcionales encargadas de la homeostasis de la glucosa (Guarner, 1986). En la primera de ellas, que va de aproximadamente el día 15 al 17 de la gestación, cada órgano depende de la glucosa que le llega por la circulación y contiene una pequeña reserva de carbohidratos (figura 7). Los mecanismos encargados de la homeostasis de la glucosa parecen estar relacionados en esta etapa a los mecanismos que regulan los cambios vasculares (Guarner, 1986). Las catecolaminas juegan un papel muy importante, provocando una redistribución en el flujo sanguíneo a los distintos órganos fetales (Jost, 1966), e incrementan el flujo de sustratos al cerebro, corazón e hígado (figura 8) (Guarner, 1986).

Hacia el final de la gestación, los mecanismos homeostáticos fetales evolucionan. El hígado se diferencia funcionalmente como almacén general de glucosa y llega a acumular casi el doble de glucógeno por gramo de tejido, que el que se encuentra en el hígado adulto (figura 7) (Jost y Picon, 1970; Guarner, 1986). La insulina y la adrenalina ya regulan en esta etapa las reservas de glucógeno en el hígado (figuras 8 y 9) (Guarner, 1986).

Debido a las características de los eritroblastos fetales, es muy probable que estén jugando un papel muy importante en la homeostasis de la glucosa durante el periodo fetal, y sobre todo durante la primera etapa de éste, en la que el hígado no se ha diferenciado funcionalmente como almacén de glucógeno y la llegada de glucosa a las células depende de la distribución de la sangre por los cambios vasculares. Por otra parte, es probable

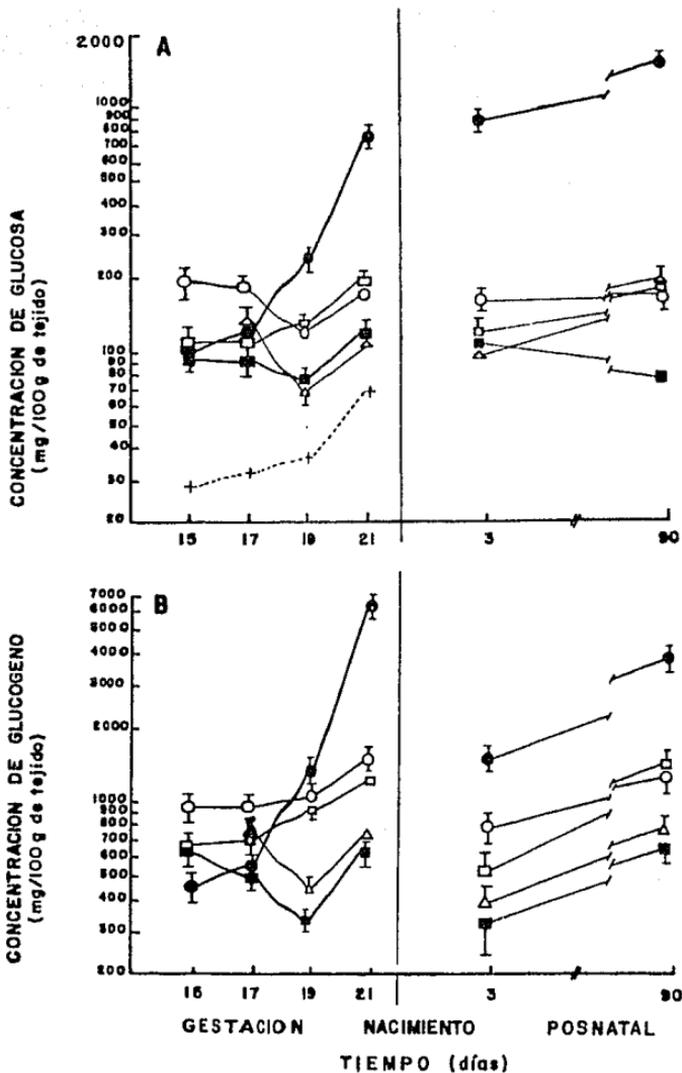


FIGURA 7 Cambios en la concentración de glucosa (A) y glucógeno (B) en el hígado (●-●), corazón (○-○), músculo esquelético (□-□), cerebro (■-■), riñón (△-△) y sangre arterial (-----) durante la gestación y la vida postnatal de la rata.  $X \pm e.e.$

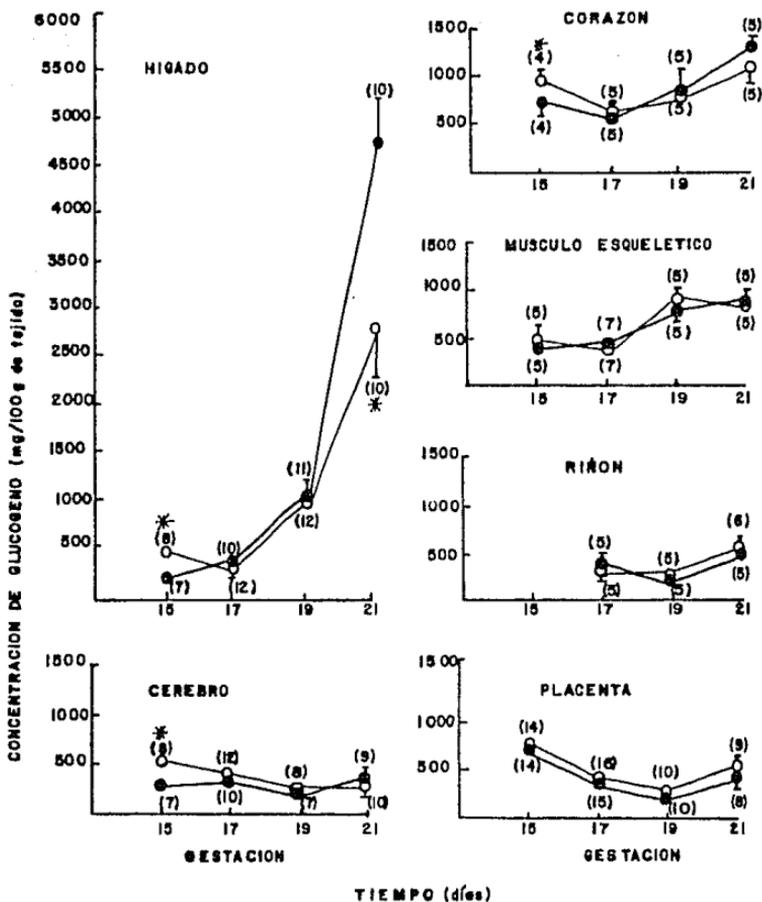


FIGURA 8 Valores normales de la concentración de glucógeno en distintos órganos fetales (●—●) y valores después de una inyección intraperitoneal de adrenalina (○—○). X ± e.e.; \* p < 0.05.

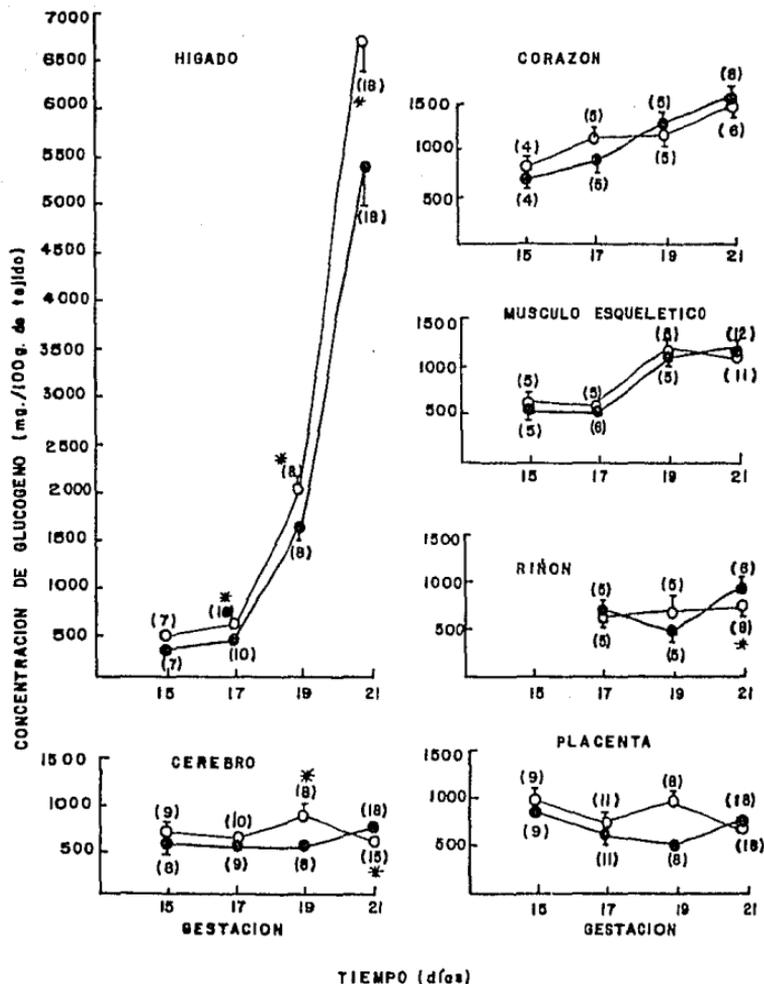


FIGURA 9 Valores normales de la concentración de glucosa en distintos órganos fetales (●—●) y valores después de una inyección intraperitoneal de insulina (○—○). X ± e.e., \* p<0.05.

que la capacidad de los eritroblastos fetales para regular la concentración de glucosa en plasma, facilite el transporte de glucosa hacia la sangre fetal en la placenta, al incrementarse el espacio en el que se puede disolver este carbohidrato en la sangre fetal.

Por ello, en la presente tesis se analizará la capacidad de los eritroblastos para compensar los cambios en la concentración de glucosa en el medio y la manera como esta propiedad de los eritroblastos se encuentra regulada por la insulina y la adrenalina. Se postula la hipótesis de que los eritroblastos fetales participan de manera importante en la regulación de la glucemia durante el periodo fetal, antes de que se establezcan los mecanismos hepáticos y hormonales del adulto. Se da un significado funcional a la existencia de un gran número de moléculas transportadoras de glucosa en las membranas de los eritroblastos, y se propone a esta característica como un mecanismo primitivo encargado de mantener el gradiente de la concentración de glucosa entre la sangre materna y la fetal, facilitando la llegada de glucosa al feto.

## MÉTODOS

### Animales experimentales.

Los experimentos se realizaron en fetos de rata de la cepa Wistar de los días 15, 17, 19 y 21 de la gestación. En la rata el embarazo dura 22 días. El embrión se implanta en la pared de las trompas uterinas entre los días 9 y 10 de la gestación. El

periodo embrionario dura del día 10 al 14 y se considera como periodo fetal al intervalo del día 14 al 22. La edad de los fetos se determinó por el método de Jost y Picon (1970) con una aproximación de 12 horas. Se dejó a las hembras aparearse con el macho por una noche (día 0 de la gestación). Se palpó el abdomen de la madre en el día 14 y se separó a las ratas embarazadas.

#### Procedimiento quirúrgico y obtención de la sangre fetal.

Las ratas embarazadas se anestesiaron con una inyección intraperitoneal de 3 mg/100g de peso corporal de pentobarbital sódico (Anestosal, Smith Kline). Se hizo una incisión en la línea media, dejando expuestas las trompas uterinas. Los fetos se exteriorizaron uno por uno dejando la placenta en su sitio. Se colectó sangre arterial proveniente de la placenta y venosa proveniente del feto de los vasos del cordón umbilical. La obtención de la sangre ocurrió entre las 9:30 y las 12:30. Para ello, se ligaron estos vasos en su porción media, se cortó el cordón umbilical a uno y otro lado del nudo y se colectó la sangre en tubos capilares heparinizados cuyas puntas terminaban en bisel. La circulación se bloqueó para impedir que la sangre arterial y venosa se mezclaran. Se comprobó que ligar estos vasos no producía alteraciones en la glucemia fetal, tomando muestras controles sin ligar estos vasos. Se ha comprobado también que el pentobarbital sódico no modifica el comportamiento de los eritrocitos con respecto a la glucosa haciendo experimentos con sangre de ratas adultas obtenida sin utilizar anestésicos.

**Variaciones en la concentración de glucosa en plasma y en el contenido de glucosa y glucógeno en los eritroblastos durante el periodo fetal de la rata.**

Se midió la concentración de glucosa en plasma y la concentración de glucosa y glucógeno en los eritroblastos de las diferentes edades fetales, y se calculó la diferencia arterio-venosa para cada una de estas variables. Se hizo un análisis de varianza para determinar si los cambios durante el periodo fetal eran significativos y si existían cambios entre las concentraciones en la sangre arterial y la venosa. Se utilizó la prueba de "t" de Student-Fisher para analizar si las diferencias arterio-venosas eran significativas. También se tomaron muestras de sangre arterial materna para determinar su concentración de glucosa en plasma.

Se comparó el contenido de glucosa y glucógeno en los eritroblastos y en el hígado, que es el almacén general de glucosa en los organismos adultos, considerando sus concentraciones por gramo de tejido y tomando en cuenta el volumen total del tejido. Para ello, se llevó un control del peso del hígado, del hematocrito y del peso corporal y se consideró que el volumen de la sangre correspondía al 12% del peso corporal en los fetos, al igual que ocurre en los adultos.

**Determinación de la capacidad de los eritroblastos de distintas edades fetales para compensar los aumentos en la concentración de glucosa en el plasma.**

En 6 tubos de reacción heparinizados se colocaron 0.2 ml de sangre. Se centrifugaron y se separó el plasma y la capa de

células blancas. El plasma se substituyó con solución salina al 0.9% que contenía concentraciones de glucosa de 0, 40, 80, 120, 160 y 200 mg/dl. Se resuspendieron las células y se incubaron durante 15 minutos a 38 C en un baño de temperatura constante con agitación. Se volvieron a centrifugar las muestras y se determinó en ellas el contenido de glucosa en la solución salina con la que se substituyó el plasma y las concentraciones de glucosa y glucógeno en los eritroblastos.

Con la misma sangre se hizo una determinación basal de la concentración de glucosa en plasma y glucosa y glucógeno en los eritroblastos, y se hizo un control en el que se centrifugó la sangre y se resuspendieron e incubaron las células en su propio plasma.

Se graficó la concentración de glucosa en la solución salina con la que se substituyó el plasma contra la diferencia en esta concentración de glucosa después del periodo de incubación, corrigiendo los datos para tomar en cuenta las variaciones en el hematocrito durante el periodo fetal. Se graficó la concentración de glucosa en la solución con la que se substituyó el plasma contra las concentraciones de glucosa y glucógeno en los eritroblastos para cada una de las edades de los fetos. Se hizo un análisis de varianza para determinar si los cambios producidos por las diferentes concentraciones de glucosa con que fueron incubadas las muestras eran significativas, y si la sangre de diferentes edades producía cambios significativos. Se trabajó con una n de 6, utilizando el número de camadas que fueran necesarias para obtener suficiente cantidad de sangre.

Efectos de la glucosa, la adrenalina y la insulina sobre los eritroblastos fetales y su papel en la homeostasis de la glucosa.

Para estudiar los efectos de la insulina, la adrenalina y la glucosa sobre la capacidad de los eritroblastos para compensar los cambios en la concentración de glucosa en el plasma en las distintas edades, se inyectó intraperitonealmente a la mitad de los fetos de distintas camadas 0.1 U de insulina/g de peso (Insulina simple, Lilly, S.P.), diluidas en un volumen de entre 25 y 50  $\mu$ l de agua destilada, o 2.0  $\mu$ g de adrenalina/g de peso (Adrenalina, Fustery), diluidas en el mismo volumen de solución salina o 400  $\mu$ g de glucosa/g de peso en el mismo volumen de solución salina. Las inyecciones se hicieron con una aguja del número 27 a través de la trompa uterina a cada feto en particular. Se dejó actuar a las hormonas y a la glucosa 5 minutos y durante ese tiempo los fetos permanecieron en su sitio en el vientre materno. No se hicieron controles sobre la posible pérdida de glucosa y hormonas al inyectarlas en el vientre de los fetos, por lo que la dosis pudo ser menor que la inyectada. La otra mitad de la camada sirvió como control.

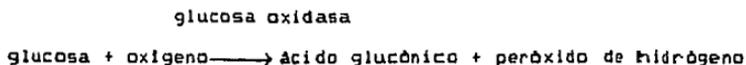
Las dosis de las hormonas se determinaron haciendo curvas dosis-respuesta sobre el glucógeno hepático en fetos del día 21 de la gestación. El tiempo durante el cual se dejó actuar a la hormona se escogió al comparar sus efectos sobre el glucógeno en el hígado a distintos intervalos en fetos de esta misma edad. Los fetos controles no recibieron ninguna inyección ya que se encontró que no había diferencias significativas entre los controles que no recibían inyección y los controles inyectados con solución salina en un volumen similar al empleado con las

hormonas y la glucosa. Por otra parte, se conocen los efectos de estas hormonas en esas dosis sobre la retención de glucosa por los fetos de las mismas edades que se emplean en este trabajo y los cambios que producen en el contenido de glucosa y glucógeno en distintos órganos fetales (Guarner, 1986).

Después de inyectar la insulina, la adrenalina y la glucosa se midieron la concentración de glucosa en plasma, y las concentraciones de glucosa y glucógeno en los eritroblastos tanto en la sangre arterial como en la venosa y se compararon con los controles utilizando la prueba de "t" de Student-Fisher pareada. Los resultados se interpretaron tratando de entender el papel de los eritroblastos en la homeostasis de la glucosa, a la luz de los efectos que se sabe que estas hormonas producen sobre otros órganos que intervienen en esta función.

#### Determinación de glucosa y glucógeno.

La concentración de glucosa en plasma se midió por el método de la enzima glucosa oxidasa (Kadish y cols., 1968), con ayuda de un analizador de glucosa Beckmann Analyzer II. La reacción química que se emplea en este método es la siguiente:



El analizador de glucosa mide el consumo de oxígeno mediante un electrodo sensible a este gas y transforma la lectura a mg de glucosa/dl de la muestra.

El contenido de glucosa y glucógeno en los eritrocitos se

cuantificó por el método de Passoneau y Lauderdale (1974). Para ello, se centrifugó la sangre y se separaron el plasma y las células blancas. Se tomaron 0.01 ml del precipitado, se lisaron las células en 0.2 ml de HCl 0.03N y se colocaron en baño de María a 100 °C por 5 minutos. La mitad de la muestra así tratada se utilizó para medir la concentración de glucosa en los eritroblastos por el método de la glucosa oxidasa. Con la otra mitad se hizo una dilución 1:5 en HCl 1N y se colocó en baño de María a 100 °C por tres horas para degradar las moléculas de glucógeno a glucosa. La concentración de glucógeno se calculó restando del valor de glucosa encontrado en las muestras en las que se degradó el glucógeno a glucosa, el valor de glucosa libre que se había determinado con la primera mitad de la muestra.

El contenido de glucosa y glucógeno en el hígado, se determinó por el mismo método homogenizando 0.01 g del tejido.

#### ANÁLISIS DE RESULTADOS

Variaciones en la concentración de glucosa en plasma y en el contenido de glucosa y glucógeno en los eritroblastos durante el periodo fetal de la rata.

Concentración de glucosa en plasma.

Encontramos un aumento progresivo en la concentración de glucosa en la sangre arterial proveniente de la placenta y en la sangre venosa proveniente del feto, conforme avanza su desarrollo (figura 10 y tabla I). No obstante, en otras especies como el

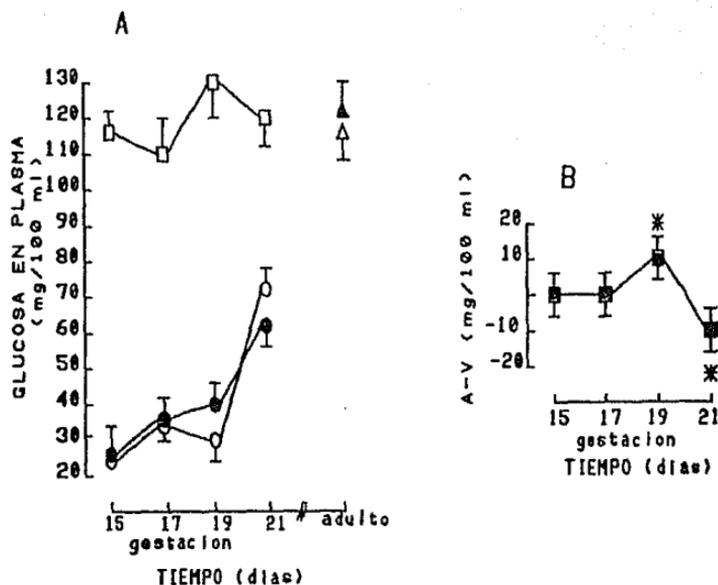


FIGURA 10 Cambios en la concentración de glucosa en sangre de rata fetal: arterial (●-●) y venosa (○-○) y en la sangre adulta: arteria uterina (□-□), arteria femoral (▲) y vena femoral (△) (A). Diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa (B). X ± e.e., p < 0.05.

TABLA I Análisis de varianza de los cambios en la concentración de glucosa en sangre arterial y venosa durante el periodo fetal de la rata.

Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Entre días de gestación (F1)	27,457.00	3	9,152.33	27.25	2X10 <sup>-10</sup>
Entre sangre arterial y venosa (F2)	1.63	1	1.63	.0049	
F1 * F2	1,595.63	3	531.88	1.58	0.197
Error	37,611.19	112	335.81		
Total	66,665.47	119	560.21		

borrego y el mono se ha reportado que la concentración de glucosa en la sangre fetal no varía con la edad de gestación (Shelley, 1960). La diferencia puede deberse a que la rata es una especie altricial, en tanto que el borrego y el mono son precoces. También encontramos que la concentración de glucosa en la sangre materna se mantuvo constante y fue siempre mayor que en la sangre fetal (figura 10). En otras especies se ha descrito que la concentración de glucosa en la sangre materna disminuye durante el embarazo, mostrando distintas tasas de decremento para las diferentes especies (Battaglia y Meschia, 1986). Es posible que la tasa de disminución en la rata sea muy pequeña y por eso no se observe en nuestros resultados.

Se reconoce que la glucosa llega a la sangre fetal por difusión facilitada a través de la placenta y que su concentración depende de la glucoemia materna (Gilbert y Bourbon, 1980; Battaglia y Meschia, 1986). Podemos explicar el aumento en la concentración de glucosa mencionado por un mecanismo capaz de regular dicho proceso de difusión facilitada, por un aumento en el número de transportadores de glucosa en la placenta, por la participación activa de las vías glucogenolíticas y gluconeogénicas que proporcionan glucosa al torrente sanguíneo en los fetos hacia el final de la gestación, o bien, por la pérdida progresiva de la capacidad de los eritroblastos para absorber glucosa del medio.

El mecanismo regulador del proceso de difusión facilitada en los fetos puede estar relacionado con las modificaciones en el metabolismo placentario descritas en algunas especies. Estas modificaciones permiten a la placenta consumir otros sustratos,

como el lactato, de manera que llega al feto una mayor concentración de glucosa (Shambaugh y cols., 1977; Ramsay y cols., 1984).

La participación de las vías gluconeogénicas y glucogenolíticas durante la vida fetal no se ha comprobado. Se describió que las enzimas de las vías gluconeogénicas no se encuentran activas en los fetos (Yeung y Oliver, 1967), pero que su actividad se puede inducir por el estrés y por algunas hormonas como la adrenalina, el glucagón y la tiroxina (Greengard y Dewey, 1967; Greengard, 1968; Battaglia y Meschia, 1986). Aunque Dawkins (1966) reportó una conversión activa de glucosa y glucógeno y viceversa en cultivos de hepatocitos fetales de rata, otros autores no han encontrado activa la enzima que cataliza el último paso del rompimiento del glucógeno, la fosforilasa, en el hígado al final de la gestación, por lo que afirman que este órgano es incapaz de liberar glucosa a la circulación (Schwartz y Rall, 1973; Devos y Hers, 1974).

Encontramos que la diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa fue pequeña los días 15 y 17, aumentó el día 19 y se invirtió el día 21 (figura 10). Esto indica un consumo bajo de glucosa durante el periodo fetal, o bien, su enmascaramiento por la liberación de glucosa intracelular por procesos de glucogenólisis o gluconeogénesis fetales. Estos resultados y los de otros autores en los que se muestra una razón menor que uno entre el consumo de glucosa y el de oxígeno en fetos de borregos, vacas y caballos, indican la oxidación de otros sustratos, además de la glucosa, en el metabolismo fetal (Tsoulos y cols., 1971; Battaglia y Meschia, 1978).

Entre los sustratos que podrían intervenir de manera importante en el metabolismo fetal se encuentra el lactato (Burd y cols., 1975; Char y Creasy, 1976a), la fructosa (Dunkins, 1966; Shelley, 1960), el acetato (Char y Creasy, 1976b), el piruvato (Char y Creasy, 1976a), y algunos aminoácidos como el glutamato y la alanina (Gerard y cols., 1973).

#### Concentración de glucosa en los eritroblastos.

Observamos que la concentración de glucosa en el interior de los eritrocitos tanto en la sangre arterial como en la venosa, se incrementa durante el desarrollo (figura 11 y tabla II). La diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa en los eritrocitos es muy pequeña y no varía significativamente durante la gestación (figura 11). La concentración de glucosa en los eritroblastos es mayor que la concentración de glucosa en plasma al principio del período fetal, y la diferencia tiende a ser menor al final de la gestación y se invierte en el adulto (ver figura 10). Resultados similares en cuanto a la relación entre la glucosa plasmática y la glucosa en el interior del eritroblasto ya se habían reportado (Hitchcock, 1949); no obstante otros autores encontraron que la proporción de glucosa en los eritroblastos es similar a la plasmática en los fetos, pero que nunca llega a haber más glucosa en los eritroblastos que en el plasma (Goodwin, 1974).

#### Concentración de glucógeno en los eritroblastos.

Encontramos que la concentración de glucógeno en los eritroblastos disminuye durante la primera mitad del período

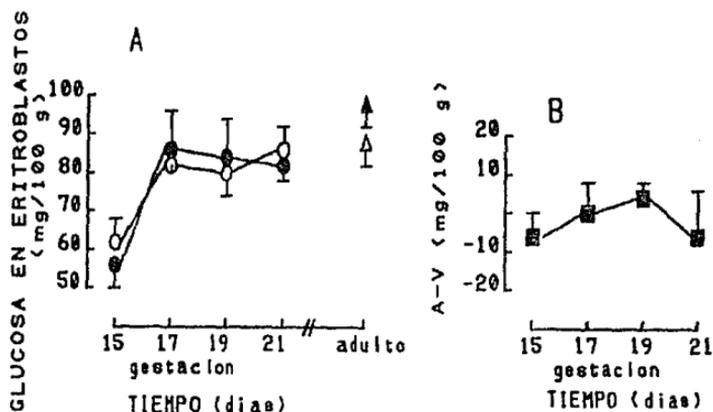


FIGURA 11 Cambios en la concentración de glucosa en el interior de los eritroblastos en la sangre arterial (●—●) y en la venosa (○—○) durante el periodo fetal y en los eritrocitos adultos arteriales (▲) y venosos (△) (A). Diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa en el interior de los eritroblastos (B).  $\bar{X} \pm e.e.$

TABLA II Análisis de varianza de los cambios en la concentración de glucosa en los eritroblastos en la sangre arterial y en la venosa durante el periodo fetal.

Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Entre días de gestación (F1)	68.21	3	22.74	5.31	.003
Entre sangre arterial y venosa (F2)	1.79	1	1.79	.42	
F1 * F2	7.64	3	2.55	.59	
Error	205.71	48	4.29		
Total	283.36	55	5.15		

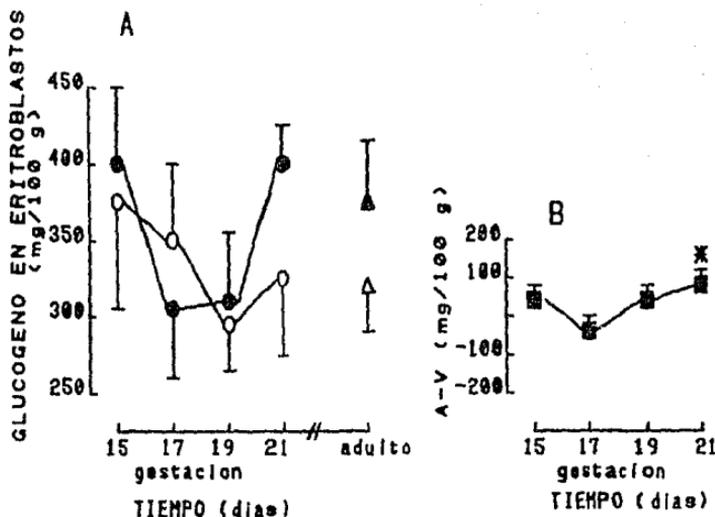


FIGURA 12 Cambios en la concentración de glucógeno en el interior de los eritroblastos en la sangre arterial (●) y en la venosa (○) durante el período fetal de la rata y en los eritrocitos adultos arteriales (▲) y venosos (△) (A). Diferencia arterio-venosa de la concentración de glucógeno en los eritroblastos fetales (B). X ± s.e.

TABLA III Análisis de varianza de los cambios en la concentración de glucógeno en los eritroblastos de la sangre arterial y venosa durante el período fetal.

Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Entre días de gestación (F1)	1,111.64	3	370.55	2.89	.044
Entre sangre arterial y venosa (F2)	77.79	1	77.79	.61	
F1 * F2	196.78	3	65.59	.51	
Error	6,133.71	48	127.79		
Total	7,519.93	55	136.73		

fetal y aumenta nuevamente en el día 21 (figura 12 y tabla III). La diferencia arterio-venosa de la cantidad de glucógeno en el interior de los eritroblastos es muy pequeña durante los días 15 al 19 de la gestación y se incrementa hasta alrededor de 100 mg/100 g de eritroblastos en el día 21 del periodo fetal. Estos datos apoyan la hipótesis de que los eritroblastos fetales juegan un papel importante en la homeostasis de la glucosa, almacenando glucosa en forma de glucógeno. Su concentración es alta al principio del periodo fetal cuando cada tejido depende de sus reservas de glucógeno y al final de éste cuando el hígado se ha diferenciado como almacén de carbohidratos y disminuye durante la etapa de transición entre estas dos organizaciones.

Comparación de las reservas de glucosa y glucógeno en los eritroblastos y en el hígado.

Encontramos que las reservas de glucosa y glucógeno en los eritroblastos son casi iguales a las de los hepatocitos al principio del periodo fetal y menores hacia el final de éste. Esto ocurre debido a que el hígado se define funcionalmente como almacén general de carbohidratos, capaz de aportar glucosa a los demás órganos fetales (figura 13).

Es posible que los hepatocitos se conviertan en un almacén importante de glucógeno como consecuencia del aumento en el número de células fetales, pues coincide con un aumento importante en el peso fetal. Es probable que la glucosa que genera la reserva de glucógeno hepático fetal provenga de las vías gluconeogénicas, ya que los fetos de 21 días de gestación sólo

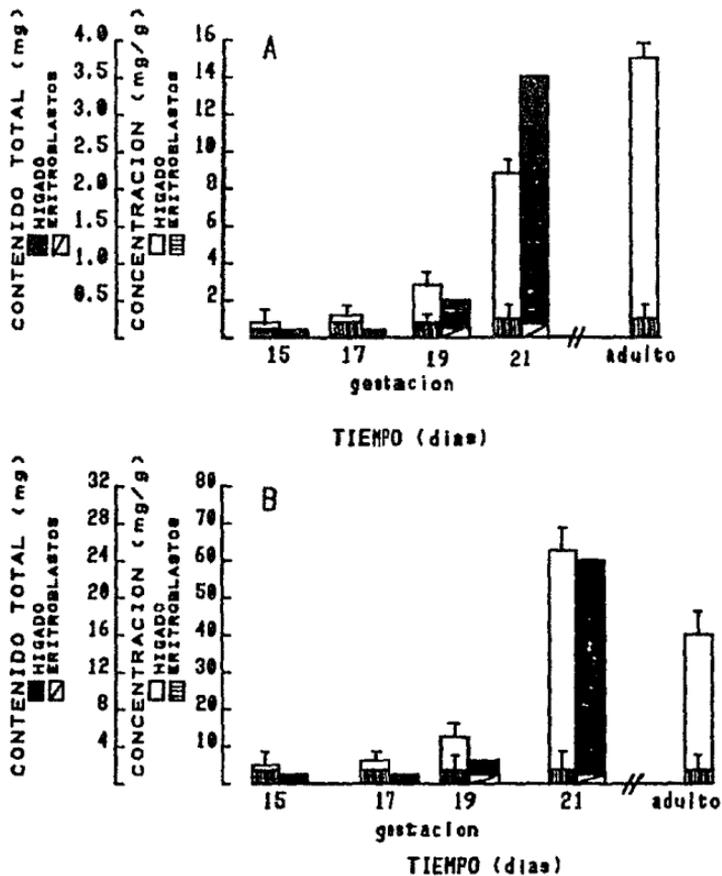


FIGURA 11 Variaciones en la concentración total y en el contenido de glucosa (A) y glucógeno (B) en los eritroblastos y en el hígado, durante el periodo fetal de la rata y en el organismo adulto.

retienen pequeñas cantidades de la glucosa que proviene de la placenta (figura 10). Aunque se describió que las enzimas que intervienen en estas vías no se encuentran normalmente activas en los fetos (Yeung y Oliver, 1967), no es posible explicar el origen de la enorme reserva de glucógeno de otra manera. Por otra parte, se reportó que la actividad de las enzimas de estas vías se puede inducir por el estrés producido por la insuficiente aportación materna de oxígeno y glucosa al final del embarazo o por la inyección de hormonas como el glucagon, la adrenalina o la tiroxina (Dawkins, 1966; Greengard y Dewey, 1967; Greengard, 1968).

La función de la reserva de glucógeno hepático fetal se desconoce. Claude Bernard (1859) sugirió que era la de una reserva energética en donde se almacenaba glucosa que era utilizada en el desarrollo de muchos tejidos y en el mantenimiento de la homeostasis fetal. No obstante, la actividad de las vías glucogenolíticas en el hígado no se ha comprobado. Dawkins (1966) reportó que existe una conversión activa de glucosa a glucógeno y viceversa en cultivos de hepatocitos fetales; sin embargo, se oponen otros autores que no han encontrado fosforilasa activa en el hígado al final de la gestación, por lo que afirman que este órgano es incapaz de liberar glucosa a la circulación (Schwartz y Rall, 1973; Devos y Hers, 1974). Por otra parte, podemos explicar el aumento que encontramos en la concentración de la glucosa en el plasma conforme avanza el desarrollo (figura 8) por la posible participación de las vías glucogenolíticas en los fetos hacia el final de la gestación.

A pesar de que el hígado no parece estar jugando un papel determinante en la homeostasis de la glucosa al principio del periodo fetal ya que no almacena glucógeno, el peso relativo de este órgano con respecto al peso corporal total es muy grande (figura 14). Se sabe que en el hígado fetal coexisten la línea celular hematopoyética y los hepatocitos y que la primera constituye el 40% del peso del órgano (Dupouy y Jost, 1969; Jost y Picon, 1970). La importancia de este órgano al principio del periodo fetal puede deberse a que es el encargado de producir los eritroblastos que salen a la circulación, llegan a la placenta para abastecerse de glucosa, y mantener de esta manera el gradiente en la concentración de glucosa entre la sangre materna y la fetal.

**Determinación de la capacidad de los eritroblastos de distintas edades fetales para compensar los aumentos en la concentración de glucosa en el plasma.**

Los experimentos *in vitro* con los que determinamos la capacidad de los eritroblastos para compensar los aumentos en la concentración de glucosa en plasma, mostraron que las células rojas fetales absorben una gran cantidad de la glucosa que se encuentra en el medio en el que se las incubaba. La capacidad de absorber glucosa del medio es mayor en los fetos de los días 15 y 17 y disminuye durante el periodo fetal. En los animales adultos la capacidad de los eritrocitos disminuye aún más (figura 15 y tabla IV).

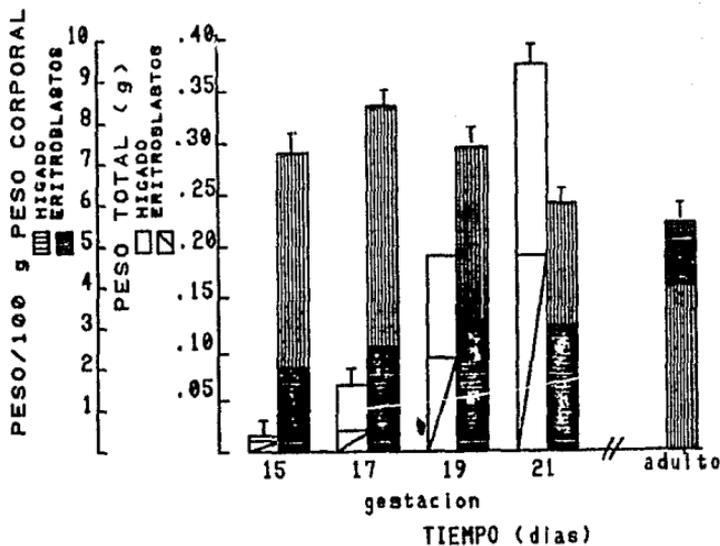


FIGURA 14 Variaciones en el peso y en el peso/100 g de peso corporal del hígado y de los eritroblastos durante el periodo fetal de la rata y en el adulto.

Estos datos concuerdan con los resultados de Goodwin (1954) y Kondo y Beutler (1980), quienes describieron que los eritroblastos tienden a perder la capacidad de transportar glucosa a través de sus membranas durante la gestación y que existe una disminución en la concentración de algunos componentes proteicos de la membrana de los eritroblastos, que probablemente corresponde a los transportadores de glucosa.

Llama la atención que los eritroblastos fetales de las edades que estudiamos liberan solamente muy pequeñas cantidades

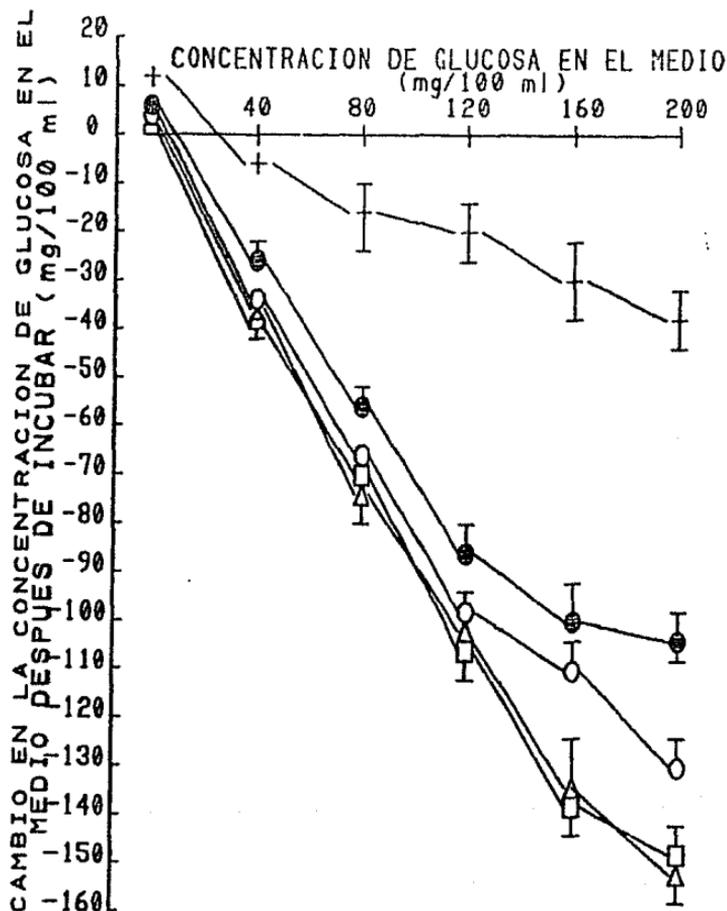


FIGURA 15 Capacidad de los eritroblastos fetales de los días 15 (Δ-Δ), 17 (□-□), 19 (○-○) y 21 (●-●) de la gestación y de los eritrocitos adultos (+-+) para compensar los cambios en la concentración de glucosa en el medio en el que son incubados. En el eje de las abscisas se grafica la concentración de glucosa con la que se sustituyó el plasma y en el eje de las ordenadas la diferencia en la concentración de glucosa en esta solución después del periodo de incubación. X ± e.e.

TABLA IV Análisis de varianza para los cambios en la capacidad de los eritroblastos para compensar los cambios en la concentración de glucosa en los diferentes medios en que fueron incubados y en las distintas edades fetales.

Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Entre edades (F1)	16,971.78	3	5,657.26	15.25	2X10 <sup>-8</sup>
Entre concentraciones (F2)	307,707.81	5	61,441.56	165.86	8X10 <sup>-10</sup>
F1 * F2	5,675.00	15	378.33	1.02	0.44
Error	44,525.47	120	371.05		
Total	374,880.07	143	2,621.54		

de glucosa al medio de cultivo cuando son incubados en presencia de bajas concentraciones de glucosa en el medio, como se había descrito para los eritrocitos adultos (Guarner y Alvarez-Buylla, 1986). Es posible que esto se deba a que los eritroblastos fetales, al ser incubados con su mismo plasma en nuestras condiciones experimentales, tienden a absorber glucosa, de manera que la glucosa liberada por los eritroblastos puede estar siendo encubierta por la tendencia a absorber glucosa de estas células (tabla V). La ausencia de liberación de glucosa también se puede deber a que el mecanismo transportador de glucosa requiere de un cierto nivel de este carbohidrato extracelular para funcionar. La capacidad de los eritroblastos para liberar glucosa cuando su concentración en el medio es baja implicaría que estas células podrían soltar la glucosa que adquirieron en la placenta a los tejidos que estuvieran bañados por un medio pobre en glucosa.

TABLA V Cambios en la concentración de glucosa en plasma, y glucosa y glucógeno en los eritroblastos después de ser incubados con su propio plasma.  $\bar{X} \pm e.e.$ , \*  $p < .05$ .

		Antes de incubar	Después de incubar	Diferencia
Glucosa en plasma	Fetos día 15	29.50 $\pm$ 0.57	21.83 $\pm$ 2.42	- 7.67*
	Fetos día 17	34.00 $\pm$ 0.57	25.60 $\pm$ 0.22	- 8.40*
	Fetos día 19	39.83 $\pm$ 2.98	25.80 $\pm$ 1.00	-14.03*
	Fetos día 21	61.00 $\pm$ 2.39	32.50 $\pm$ 2.02	-28.50*
	Adultos	162.40 $\pm$ 7.88	129.20 $\pm$ 6.15	-33.20*
Glucosa en eri- trocitros	Fetos día 15	63.33 $\pm$ 5.61	76.67 $\pm$ 7.33	+13.36
	Fetos día 17	86.67 $\pm$ 3.04	96.67 $\pm$ 7.70	+10.00
	Fetos día 19	96.00 $\pm$ 21.47	90.00 $\pm$ 5.00	- 6.00
	Fetos día 21	83.33 $\pm$ 7.70	86.67 $\pm$ 10.97	+ 3.34
	Adultos	92.00 $\pm$ 7.69	132.00 $\pm$ 12.13	+40.00*
Glucógeno en eri- trocitros	Fetos día 15	340.00 $\pm$ 13.33	390.00 $\pm$ 25.28	+50.00
	Fetos día 17	290.00 $\pm$ 29.34	313.33 $\pm$ 7.70	+23.33
	Fetos día 19	235.00 $\pm$ 27.73	328.00 $\pm$ 53.52	+93.00
	Fetos día 21	343.33 $\pm$ 11.94	373.33 $\pm$ 48.69	+30.00
	Adultos	560.00 $\pm$ 65.32	668.00 $\pm$ 82.68	+108.00*

La concentración de glucosa en el interior de los eritrocitos aumentó cuando incrementamos la concentración de glucosa en el medio en el que eran incubadas; sin embargo, no hubo diferencias significativas entre la sangre de las distintas edades fetales (figura 16 y tabla VI). Cuando los eritroblastos fueron incubados con poca glucosa, la concentración de este carbohidrato en su interior fue menor que la que se encontraba en condiciones basales en esa edad, y cuando se incubaron con mucha glucosa, su concentración en el interior fue mayor que en dichas condiciones (figura 11). No encontramos cambios en la concentración de glucosa en el interior de los eritrocitos adultos después del periodo de incubación. Esto indica que posiblemente los eritroblastos fetales están participando de manera más activa en la homeostasis de la glucosa fetal que los

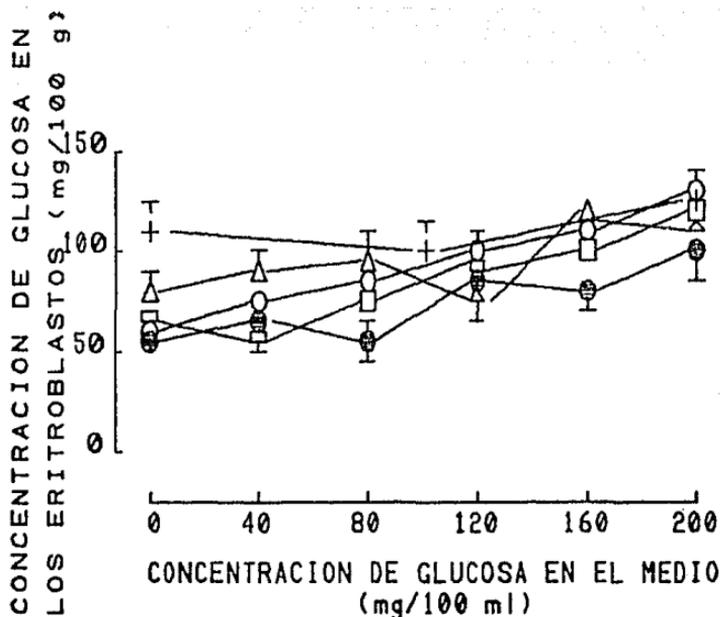


FIGURA 16 Cambios en la concentración de glucosa en los eritroblastos fetales de los días 15 ( $\Delta$ - $\Delta$ ), 17 ( $\square$ - $\square$ ), 19 ( $\circ$ - $\circ$ ) y 21 ( $\bullet$ - $\bullet$ ) de la gestación y en el adulto (+-+) después del periodo de incubación en medios con distintas concentraciones de glucosa.  $\bar{X} \pm e.e.$

Tabla VI Análisis de varianza de los cambios en la concentración de glucosa en los eritroblastos de las distintas edades fetales al ser incubados en medios con distintas concentraciones de glucosa.

Origen	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Entre edades (F1)	13.00	3	4.33	.97	
Entre con- centraciones (F2)	323.25	5	64.65	14.47	$4 \times 10^{-10}$
F1 * F2	27.75	15	1.85	.41	
Error	536.00	120	4.47		
Total	900.00	143	6.29		

eritrocitos adultos.

La concentración de glucógeno en los eritroblastos fetales aumentó cuando los incubamos en medios ricos en glucosa y hubo diferencias significativas entre los eritroblastos de las distintas edades fetales (figura 17 y tabla VII). No obstante, los fetos del día 15 no fueron los que almacenaron mayores concentraciones de glucógeno. Esto se debe probablemente a que los eritroblastos de los fetos del día 15 de la gestación son todavía células macrocíticas y nucleadas, de manera que gran parte del volumen de la muestra en la que analizamos la concentración de glucógeno se encontraba ocupada por núcleos celulares en los que no existe este carbohidrato. En cambio, los eritroblastos de los fetos del día 21 ya han perdido sus núcleos y el volumen en el que analizamos el glucógeno estaba formado principalmente por citoplasma en el que esta molécula podía distribuirse homogéneamente. A pesar de ello, fue en esta edad fetal en la que los eritroblastos acumularon la menor cantidad de glucógeno. Los eritrocitos adultos siempre contuvieron mayor cantidad de glucógeno en su interior que los eritroblastos en nuestras condiciones *in vitro*. Esto se debe probablemente a que cuando se incuban los eritrocitos adultos en su propio plasma incrementan su contenido de glucógeno en mayor proporción que los eritroblastos fetales (Tabla V). La concentración de glucógeno en los eritroblastos que fueron incubados con poca glucosa fue menor que la que se encontraba en condiciones basales en esas edades, y su concentración cuando fueron incubadas con mucha glucosa fue mayor que en esas condiciones (figura 12).

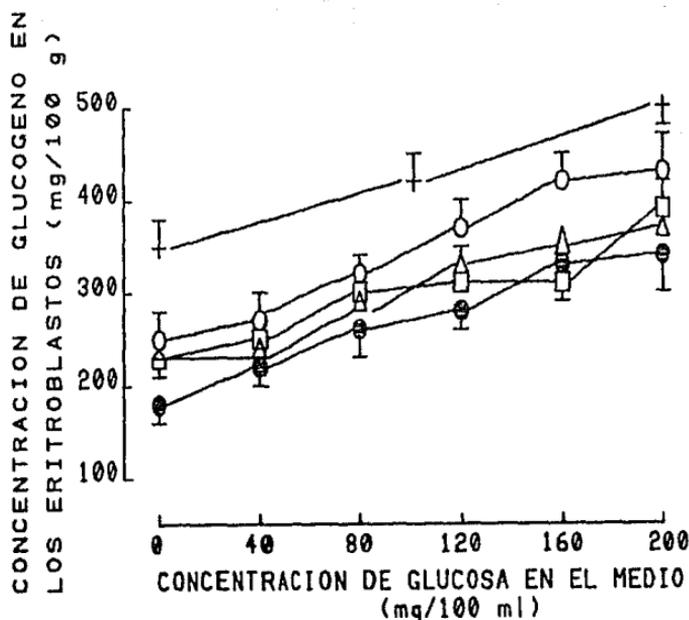


FIGURA 17 Cambio en la concentración de glucógeno en los eritroblastos fetales de los días 15 ( $\Delta$ - $\Delta$ ), 17 ( $\square$ - $\square$ ), 19 ( $\circ$ - $\circ$ ) y 21 ( $\bullet$ - $\bullet$ ) de la gestación y en el adulto ( $+$ - $+$ ), después de ser incubados en medios que contenían distintas concentraciones de glucosa.  $X \pm e.e.$

TABLA VII Análisis de varianza de la concentración de glucógeno en los eritroblastos de las distintas edades fetales después de ser incubados en medios que contenían distintas concentraciones de glucosa.

Origen	Suma de cuadrados	Grados d libertad	Cuadrados medios	F	p
Entre edades (F1)	708.75	3	236.25	4.59	.004
Entre con- centraciones (F2)	4,532.97	5	906.59	17.61	$3 \times 10^{-10}$
F1 * F2	211.58	15	14.11	.27	
Error	6,178.67	120	51.49		
Total	11,631.97	143	81.34		

**Efectos de la glucosa, la adrenalina y la insulina sobre la capacidad de los eritroblastos para compensar los cambios en la concentración de glucosa en el plasma.**

Efectos de la glucosa

Cuando inyectamos glucosa intraperitonealmente a fetos de distintas edades encontramos que la concentración de glucosa en el plasma de la sangre arterial y la venosa aumentó (figura 18 y tabla VIII). El incremento fue mayor en los fetos de 17 días que en los de 21. Se hizo una regresión lineal en la que se encontró una pendiente (m) igual a -20.21, un coeficiente de regresión ( $r^2$ ) de 0.46 y una probabilidad (p) de 0.0007 en el plasma de la sangre venosa. La concentración de glucosa en el plasma arterial no mostró una regresión estadísticamente significativa. La diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa en plasma disminuyó en igual proporción en todas las edades estudiadas (figura 18).

Las concentraciones de glucosa y glucógeno en los eritroblastos no se modificaron significativamente en la sangre arterial pero aumentaron en la venosa, compensando el incremento en la concentración de glucosa en el plasma. El aumento tendió a ser mayor en los fetos de 17 días que en los de 21. La diferencia arterio-venosa de las concentraciones de glucosa y glucógeno disminuyeron significativamente en los días 19 y 17 respectivamente (figura 18 y tabla VIII).

Estos datos muestran que al inyectar la misma proporción de glucosa respecto al peso corporal de los fetos, los más jóvenes responden con mayor hiperglucemia y mayor incremento en la

DIFERENCIA EN LA CONCENTRACION DE GLUCOSA Y  
GLUCOGENO RESPECTO A LOS FETOS CONTROL  
(mg/100 g)

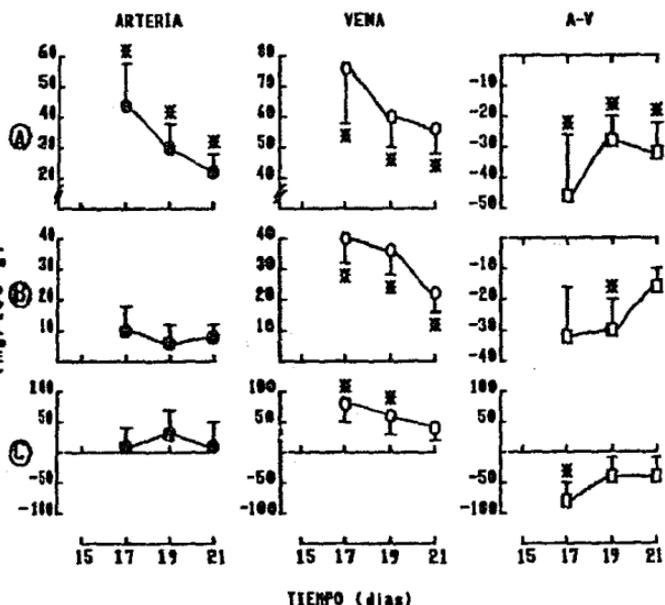


FIGURA 18 Efectos de la inyección intraperitoneal de glucosa a fetos de rata de distintas edades en la sangre arterial, la venosa y la diferencia arterio-venosa (A-V). A) Concentración de glucosa en plasma B) Concentración de glucosa en los eritroblastos y C) Concentración de glucógeno en los eritroblastos. X! e.e., # p<0.05.

TABLA VIII Efectos de las inyecciones intraperitoneales de glucosa, adrenalina e insulina a fetos de distintas edades.

		D15	D17	D19	D21
<b>GLUCOSA EN PLASMA</b>					
Control	arteria	27.7±3.0	37.1± 6.3	42.9±5.3	41.2± 4.0
	vena	25.4±3.3	37.0± 5.0	28.6±3.5	50.5± 5.7
Glucosa	arteria		82.4±11.9*	76.9±6.0*	60.9± 4.0*
	vena		103.0±19.8*	92.9±6.0*	102.9±11.6*
Adrenalina	arteria	33.8±9.3	48.6±10.0	42.2±3.8	43.5± 3.4
	vena	17.4±3.8	47.4± 5.6	36.7±3.9*	77.1± 6.9*
Insulina	arteria	23.8±2.9	44.9± 6.3	34.5±5.6	34.9± 7.2
	vena	21.2±3.2	49.3± 5.1	31.0±4.4	46.7± 7.0
<b>GLUCOSA EN ERITROBLASTOS</b>					
Control	arteria	57.1±6.3	85.7±10.5	84.0±6.8	83.0± 6.1
	vena	62.9±4.8	85.7± 5.3	82.0±6.0	86.2± 5.5
Glucosa	arteria		94.3± 6.7	90.0±6.1	77.1± 6.3
	vena		125.7±10.5*	127.5±8.6*	102.9±11.0*
Adrenalina	arteria		68.6± 3.7	86.0±7.0	87.5± 7.0
	vena		77.1± 4.8	78.0±5.2	92.5±11.7
Insulina	arteria		80.0± 4.0	82.3±7.4	82.9± 6.3
	vena		77.2± 6.4	92.5±7.0	88.6± 3.7
<b>GLUCOGENO EN ERITROBLASTOS</b>					
Control	arteria	400.0±52.1	314.3±29.1	316.0±36.4	393.8±27.0
	vena	362.9±36.9	301.9±42.8	301.5±28.0	342.5±28.0
Glucosa	arteria		320.0±29.1	360.0±52.2	351.4±29.6
	vena		431.4±28.2*	360.0±33.5*	395.7±41.5
Adrenalina	arteria		331.4±30.2	294.0±38.8	392.5±39.2
	vena		295.1±21.2	312.0±32.9	297.5±23.5*
Insulina	arteria		231.4±26.4*	330.0±45.6	342.9±27.8*
	vena		337.1±25.4	320.0±34.1	368.6±20.6

D15: fetos del día 15, D17: fetos del día 17, D19: fetos del día 19, D21: fetos del día 21. X± e.e. \*p < 0,05.

concentración de glucógeno en el interior de sus eritroblastos los fetos de 21 días. Esto implica que los eritroblastos compensan los aumentos en la concentración de glucosa en el plasma desde el comienzo de la vida fetal. Hacia el final de ésta, la hiperglucemia causada por la inyección de glucosa es menor debido posiblemente a que ya se han establecido otros mecanismos más eficaces para controlar la gluemia, como el establecimiento de un almacén general de carbohidratos en el

hígado. Simultáneamente, el mecanismo primitivo de compensación de los aumentos en la glucemia, del que los eritroblastos eran un componente importante tiende a perderse y los aumentos en la concentración de glucógeno en estas células son menores.

#### Efectos de la adrenalina

Con la inyección de adrenalina no observamos ningún cambio en el plasma y en el contenido de glucosa y glucógeno en los eritroblastos de la sangre arterial. En la sangre venosa encontramos que la concentración de glucosa en el plasma se incrementó en forma progresiva en los días 19 y 21 de la gestación ( $m = 6.11$ ,  $\sigma^2 = 0.56$ ,  $p = 3 \times 10^{-6}$ ). La concentración de glucosa en los eritroblastos no experimentó cambios significativos mientras que la concentración de glucógeno tendió a disminuir hacia el día 21, aportando glucosa al plasma. Al hacer un análisis de regresión, los datos presentaron una variación significativa ( $p < 0.05$ ) con elementos no lineales. Encontramos que la diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa en el plasma se incrementó significativamente en el día 15 de la gestación y fue disminuyendo progresivamente hasta el día 21 ( $m = -4.86$ ,  $\sigma^2 = 0.45$ ,  $p = 9 \times 10^{-5}$ ). La diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa en los eritroblastos se mantuvo constante, en tanto que la diferencia en la concentración de glucógeno se elevó en el día 17, disminuyó en el 19 y no mostró cambios significativos en el 21 (figura 19 y tabla VIII).

Estos datos muestran que la función glucogenolítica de la adrenalina sobre los eritroblastos aparece entre los días 19 y 21

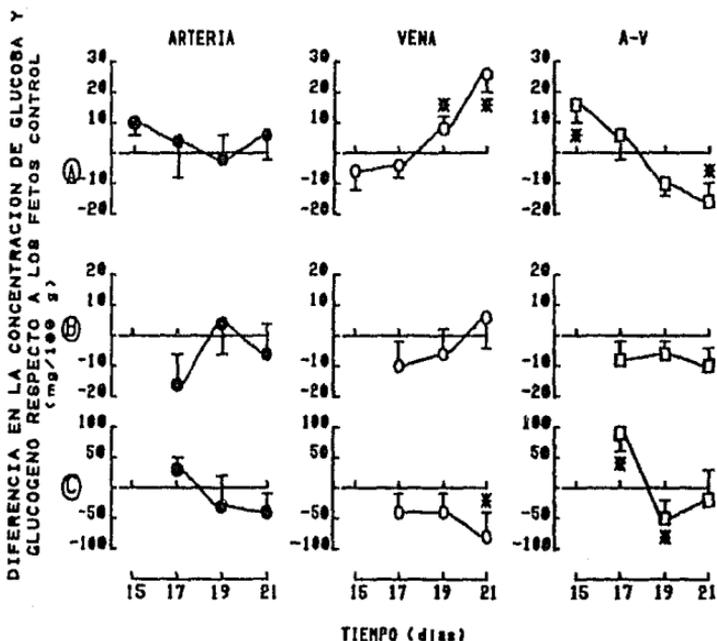


FIGURA 19 Efectos de la inyección intraperitoneal de adrenalina a fetos de rata de distintas edades sobre la sangre arterial, la venosa y la diferencia arterio-venosa (A-V). A) Concentración de glucosa en plasma B) Concentración de glucosa en los eritroblastos y C) Concentración de glucógeno en los eritroblastos.  $X \pm e.e.$ , \* $p < 0.05$ .

de la gestación, coincidiendo con el momento en el que esta hormona comienza a regular la glucogenólisis hepática. En el momento en el que se establece la reserva de carbohidratos en el hígado, la adrenalina produce hiperglucemia y hace que los eritroblastos disminuyan sus reservas de carbohidratos comportándose como hepatocitos circulantes. Se ha descrito que en el día 15 de la gestación, la adrenalina incrementa la concentración de glucógeno en el hígado, el corazón y el cerebro, al incrementarse la llegada de glucosa a estos órganos a través de cambios vasculares (Guarner, 1986). Es posible que en esta edad la adrenalina actúe sobre los eritroblastos haciendo que liberen glucosa al medio; no obstante, en este trabajo no se demostró lo anterior debido a que el volumen de las muestras de eritroblastos de esta edad que obtuvimos eran demasiado pequeñas para poder determinar el contenido de glucosa y glucógeno.

#### Efectos de la insulina

Cuando inyectamos insulina intraperitonealmente a fetos de distintas edades no encontramos cambios significativos en la concentración de glucosa en el plasma ni en su concentración en los eritroblastos en la sangre arterial y la venosa. Tampoco encontramos cambios significativos en la diferencia arterio-venosa de la concentración de este carbohidrato. Observamos una disminución en la concentración de glucógeno en los eritroblastos de la sangre arterial en los días 17 y 21 que posiblemente se deba a efectos de la insulina sobre la placenta, disminuyendo la concentración de glucosa que pasa a la sangre fetal. No se encontró ningún cambio en la concentración de este carbohidrato

en la sangre venosa. La diferencia arterio-venosa de la concentración de este carbohidrato no se modificó significativamente con la inyección de la insulina (figura 20 y tabla VIII).

Estos datos muestran que la insulina no modifica la capacidad de los eritroblastos de las edades fetales estudiadas para compensar los cambios en la concentración de glucosa en el plasma. De esta manera, se impide que los eritroblastos absorban la glucosa cuando la insulina incrementa su consumo por otros tejidos.

#### DISCUSION

Todas las células requieren energía para realizar sus funciones. Esta energía la obtienen mediante la respiración celular, que consiste en oxidar sustancias complejas, y almacenando la energía que guardan sus enlaces en forma de ATP. La glucosa es el compuesto que se emplea más frecuentemente como sustrato inicial de las reacciones respiratorias, generadoras de la energía celular.

En los organismos pluricelulares se han desarrollado mecanismos complejos que les permiten mantener dentro de ciertos límites las concentraciones de glucosa extra e intracelular (figura 2). Durante el desarrollo embrionario, los sistemas reguladores que mantienen constantes los niveles de glucosa desde

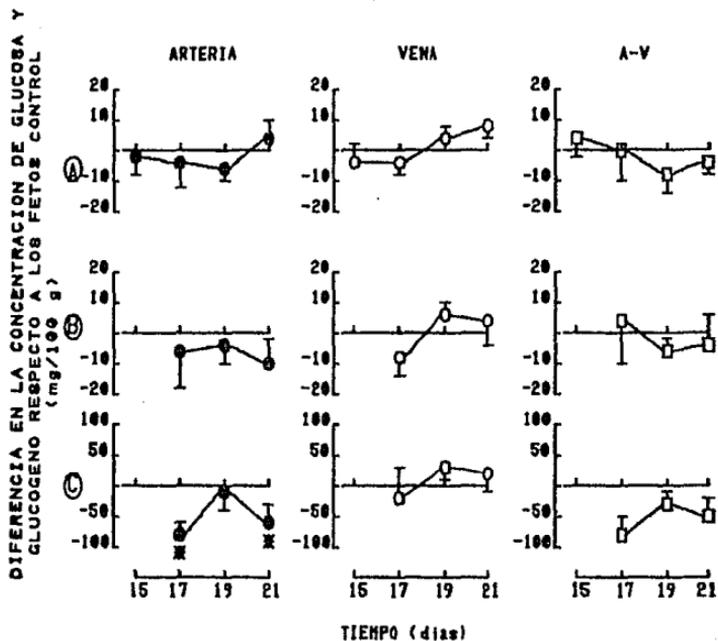


FIGURA 20 Efectos de la inyección intraperitoneal de insulina a fetos de rata de distintas edades, sobre la sangre arterial, la venosa y la diferencia arterio-venosa (A-V). A) Concentración de glucosa en plasma, B) Concentración de glucosa en los eritroblastos y C) Concentraciones de glucógeno en los eritroblastos.  $X \pm e.e.$ , \* $p < 0.05$ .

que el organismo se encuentra constituido por una sola célula hasta que lo forman miles de ellas, cambian y evolucionan. En el presente trabajo se analizó la capacidad de los eritroblastos para compensar los aumentos de glucosa en el plasma, y se propone a esta función como un mecanismo primitivo encargado de mantener el gradiente de la concentración de glucosa entre la sangre materna y la fetal, sobre todo al principio del periodo fetal.

Se ha descrito que antes de la implantación, los embriones obtienen energía a partir de las reservas de glucógeno del óvulo y que el consumo de este carbohidrato por el embrión aumenta hasta cien veces durante las etapas que preceden a la implantación (Brinster, 1967 y 1968). Desde el momento de la implantación hasta la etapa de formación de las primeras somitas, los embriones se nutren a partir del líquido que llena el lecitocelo y de las células uterinas que se degradan para formar la decidua (Tanimura y Shepard, 1970).

Durante el periodo embrionario y las primeras fases del periodo fetal, la glucosa se obtiene principalmente por el proceso de difusión facilitada de la glucosa de la sangre materna a la fetal en la placenta. Se ha descrito que al principio del periodo embrionario, el organismo consume gran cantidad de glucosa y que este consumo va disminuyendo con el crecimiento hasta antes del periodo fetal, en que alcanza los niveles de los organismos adultos. El gran consumo de glucosa en los embriones se debe a los procesos sintéticos y a que en las células embrionarias las vías aeróbicas de la degradación de glucosa aún no se encuentran activas, por lo que se requiere una gran cantidad de este carbohidrato para obtener energía (Köhler y

Peters, 1970).

Se ha reportado también que en las etapas iniciales del desarrollo fetal en la rata, los mecanismos que mantienen la homeostasis de la glucosa no se encuentran aún desarrollados de manera similar a los sistemas que controlan la concentración de glucosa en los animales adultos. Cada órgano tiene sus propias reservas de carbohidratos pequeñas e independientes. La magnitud de estas reservas parece depender únicamente de la cantidad de glucosa que les llega por la circulación, y los mecanismos encargados de la homeostasis de la glucosa están ligados a los mecanismos que regulan los cambios vasculares (Guarner, 1986). Se ha descrito que las catecolaminas redistribuyen el flujo sanguíneo favoreciendo al cerebro, el corazón y el hígado e incrementan el flujo de sustratos, particularmente de glucosa (Jost, 1966; Guarner, 1986). Las células de la médula suprarrenal y de los ganglios para-abríticos son sensibles a la asfixia y a la hipoglucemia en esta etapa, y responden a estos estímulos secretando catecolaminas (Comline y Silver, 1966). Es en esta etapa en la que suponemos que los eritroblastos juegan un papel importante en la homeostasis de la glucosa, debido a que tienen un gran número de moléculas transportadoras de glucosa en sus membranas (Kondo y Beutler, 1980).

Hacia el final de la gestación, los mecanismos homeostáticos fetales evolucionan hacia una regulación integrada y tienden a parecerse más a los que mantienen los niveles de glucosa en los adultos. El hígado actúa como almacén general de carbohidratos y la insulina y la adrenalina regulan la liberación o el almacenamiento de glucosa por este órgano (Guarner, 1986). Es

posible que en esta etapa gran parte de los mecanismos neuroendócrinos que regulan la glucemia en los adultos ya se hayan establecido. Se ha descrito que los quimiorreceptores del seno carotídeo maduran relativamente temprano en el periodo fetal de la rata (día 18 de la gestación) (Kondo, 1975) y que responden a la estimulación con cianuro incrementando los movimientos respiratorios y aumentando la irrigación hacia el cerebro, el corazón, las glándulas suprarrenales, el hígado y la placenta en el borrego fetal (Purves y Biscoe, 1966; Walker, 1984). No obstante, se desconoce su papel en la regulación de la glucemia en los fetos. El eje hipotálamo-hipofisiario inicia su funcionamiento en la rata alrededor del día 18 de la gestación (Jost y Picon, 1970), y es posible que intervenga en la regulación de la glucemia mediante la secreción de hormonas desde esta etapa. Sin embargo, su papel en la homeostasis de la glucosa fetal aún se desconoce en su mayor parte. Los glucocorticoides se secretan desde antes de que funcione el eje hipotálamo-hipofisiario (Jost y Picon, 1970) e intervienen en la maduración de algunos tejidos como el pulmón (Bourbon y Jost, 1982), la médula suprarrenal (Margolis y cols., 1966) y el hígado en el que inducen la síntesis del glucógeno y la desaparición de las células eritropoyéticas hepáticas (Jost y Picon, 1970). En esta etapa las moléculas transportadoras de glucosa en la membrana de los eritroblastos se van perdiendo (Kondo y Beutler, 1980), y la capacidad de los glóbulos rojos para compensar los aumentos en la glucemia disminuye y comienza a estar bajo control de la adrenalina.

En el presente trabajo se da un significado funcional a la existencia de un gran número de moléculas transportadoras de glucosa en las membranas de los eritroblastos fetales, y se propone a esta característica como un mecanismo primitivo que mantiene el gradiente de la concentración de glucosa entre la sangre materna y la fetal. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la concentración de glucosa en el plasma de la sangre fetal se incrementa conforme avanza el embarazo. La glucosa que causa este incremento puede provenir de las vías glucogenolíticas y/o gluconeogénicas fetales que se activan al final de la gestación (Battaglia y Meschia, 1986), o deberse a un incremento del número de moléculas transportadoras de glucosa en la placenta, o bien al establecimiento de algún mecanismo capaz de regular el proceso de difusión facilitada a nivel de la placenta. En este último caso, el mecanismo haría que la placenta consuma otros sustratos como el lactato y permitiría que llegue al feto una mayor concentración de glucosa (Shambaugh y cols., 1977; Ramsay y cols., 1984). El aumento en la concentración de glucosa en el plasma fetal se puede deber también a una disminución en la capacidad de los eritroblastos para absorber la glucosa del medio que los rodea e incorporarla a sus reservas de glucógeno.

Los resultados de esta tesis indican que la diferencia arterio-venosa de la concentración de glucosa en plasma fue pequeña durante el período fetal. Posiblemente en los fetos existan otros sustratos importantes además de la glucosa, o bien, la cantidad de glucosa retenida por los fetos esté siendo enmascarada por glucosa liberada por los fetos a través de las

vías glucogenolíticas y/o gluconeogénicas.

La concentración de glucosa en los eritroblastos se incrementó durante el período fetal y fue siempre mayor que en el plasma. La concentración de glucógeno en los eritroblastos fetales fue mayor que la de los eritrocitos adultos. La concentración de glucógeno fue alta durante la primera mitad del período fetal en que cada órgano depende de sus reservas de carbohidratos y en el día 21 en el que el hígado actúa como almacén de carbohidratos y disminuyó en el período de transición entre estas dos organizaciones.

Es posible que el enorme tamaño del hígado al principio del período fetal (figura 14) se deba a que está produciendo los eritroblastos. Estas células podrían salir después a la circulación para llegar a abastecerse de glucosa en la placenta y mantener el gradiente de la concentración de glucosa entre la sangre materna y la fetal. De esta manera, el hígado fetal intervendría de manera importante en la homeostasis de la glucosa, a pesar de no constituir un almacén de este carbohidrato al principio del período fetal.

En el presente trabajo se encontró que los eritroblastos absorben mayor cantidad de glucosa del medio cuando se encuentran en presencia de altas concentraciones de este carbohidrato al principio del período fetal, y que tienden a perder esta capacidad conforme avanza el desarrollo. No se logró comprobar que al principio del período fetal, los eritroblastos aporten mayor cantidad de glucosa al medio cuando existen en él pequeñas concentraciones de este carbohidrato.

Estos datos sugieren que no sólo existe un mayor número de moléculas transportadoras de glucosa en los eritroblastos al principio del período fetal, y que éstos se van perdiendo conforme avanza la gestación como se había descrito (Kondo y Boutler, 1980), sino que los eritroblastos se encuentran más activos durante esta etapa al absorber una mayor cantidad de glucosa cuando ésta se encuentra en exceso.

Tanto la concentración de glucosa como de glucógeno en el interior de los eritroblastos se incrementó al encontrarse estas células en presencia de altas concentraciones de glucosa en el medio que las rodea. La concentración de glucógeno alcanzada es menor al final de la gestación que al principio del período fetal.

Los experimentos en los que se inyectó glucosa a los fetos mostraron que los eritroblastos compensan los aumentos en la concentración de glucosa en el plasma desde el comienzo del período fetal. Hacia el final de la gestación se establecen otros mecanismos más eficaces para controlar la glucemia, como el establecimiento de una reserva general de carbohidratos en el hígado; el mecanismo primitivo de compensación de la hiperglucemia dado por los eritroblastos tiende a perder importancia.

Entre el día 19 y el 21 de la gestación los eritroblastos, al igual que los hepatocitos, comienzan a ser sensibles a la adrenalina, y disminuyen sus reservas de glucógeno aún en presencia de hiperglucemia. Esta regulación no se observa en los días 17 y 19. La insulina no modifica la capacidad de los eritroblastos para compensar los cambios en la concentración de

glucosa en el plasma en las edades fetales estudiadas, impidiendo que estas células absorban la glucosa cuando actúa para incrementar su consumo por otros tejidos.

Es posible que en el período fetal los demás grupos de células sanguíneas también participen en la compensación de los aumentos en la concentración de glucosa. Como en todos los tejidos, la concentración de glucosa en las células sanguíneas depende de la cantidad de glucosa que se encuentra en el líquido extracelular durante la primera mitad de este período. Todas las células sanguíneas al llegar a la placenta, donde la glucosa es abundante, podrían absorber este carbohidrato y llenar sus reservas de glucógeno, manteniendo el gradiente en la concentración de glucosa y facilitando su paso a través de la placenta. Sin embargo, los eritroblastos deben ser los más importantes en esta función debido a que son el grupo de células sanguíneas más abundante (Thomas y cols., 1960; Thomas y Yoffey, 1962).

Todos estos datos sugieren que los eritroblastos fetales juegan un papel muy importante en la homeostasis de la glucosa al compensar los aumentos en la glucemia, y que su función se va perdiendo conforme avanza la gestación (figura 21). De esta manera los fetos cuentan con un sistema que facilita el paso de glucosa a través de la placenta, al igual que poseen una hemoglobina con mayor afinidad por el oxígeno que facilita el paso de este gas hacia el feto.

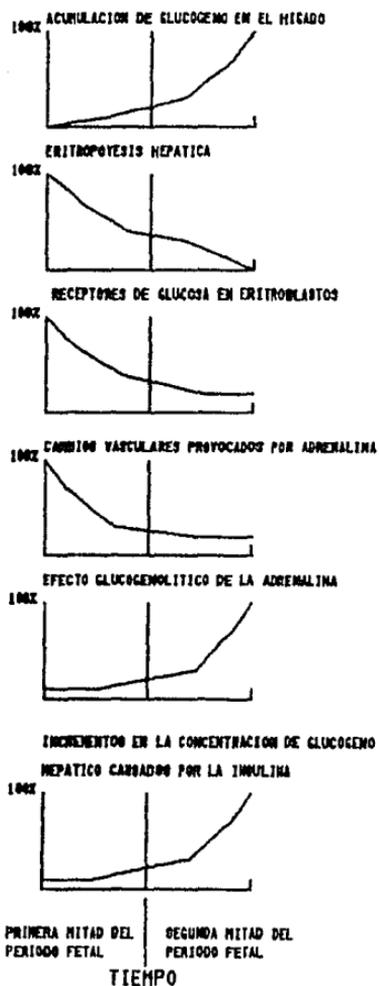


FIGURA 21 Cambios más importantes en los tejidos que sugieren un cambio en los mecanismos encargados de la homeostasis de la glucosa durante el periodo fetal de la rata

## REFERENCIAS

- Alvarez-Buylla, R. (1981) Glucose influence on the carotid sinus chemoreceptor function. 327-335. in: Arterial Chemoreceptors. Belmonte, C., Pallot, D.J., Acker, H., Fidone, S. (eds.) Leicester Univ. Press. Great Britain.
- Alvarez-Buylla, R., Alvarez-Buylla, E.R.de (1975) Hypoglycemic conditioned reflex in rats: preliminary study of its mechanism. J. Comp. Physiol. Psychol. 88(1):155-160.
- Alvarez-Buylla, R., Alvarez-Buylla, E.R.de (1983) Nuevos datos sobre la respiración del encéfalo. Resúmenes del XXVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. p:59.
- Alvarez-Buylla, R., Alvarez-Buylla, E.R. de (1988) Carotid sinus receptors participate in glucose homeostasis. Respirat. Physiol. 22:347-359.
- Alvarez-Buylla, R., Bencosme, S. (1981) Reflex hypoglycemia initiated by insulin. Acta Physiol. Latinoam. 31:1-11.
- Alvarez-Buylla, R., Carrasco-Zanini, J. (1960) A conditioned reflex which reproduces the hypoglycemic effect of insulin. Acta Physiol. Latinoam. 10:153-158.
- Alvarez-Buylla, R., Segura, E.T., Alvarez-Buylla, E.R.de (1961) A study of the afferent path of the hypoglycemic reflex of insulin. Acta Physiol. Latinoam. 11(2):43-50.
- Aubby, D.S., Widdas, W.F. (1980) Asymmetry of hexose transfer system in erythrocytes of foetal and new-born guinea-pigs. J.Physiol.Lond. 302:317-327.
- Baldwin, J.M., Gorga, J.C., Lienhard, G.E. (1981) The monosaccharide transporter of the human erythrocyte. J. Biol. Chem. 256(8):3685-3689.
- Battaglia, F.C., Meschia, G. (1978) Principal substrates of fetal metabolism. Physiol. Rev. 58(2): 499-527.
- Battaglia, F.C., Meschia, G. (1986) An Introduction to Fetal Physiology. Academic Press, Inc., Florida, E.U.A.
- Beckman, B.S., Hollenberg, M.D. (1979) Beta-adrenergic receptors and adenylate cyclase activity in rat reticulocytes and mature erythrocytes. Biochem. Pharmacol. 28:239-248.
- Bernard, C. (1849) Influence de la section des peduncules cerebelleux moyens sur la composition de l'urine. Compt. Rend. Soc. de Biol. Paris 1:14-32.
- Bernard, C. (1859) De la matière glycogene considerée comme

condition du developpement de certains tissus chez le fœtus, avant l'apparition de la fonction glycogenique du foie. C. R. Acad. Sci. 48:673-684.

Biggers, J.D. (1980) Fetal and neonatal physiology. in: Medical Physiology. Mountcastle, V.B. (ed.), fourteenth edition. C.V. Mosby Co. USA. pp:1947-1985.

Bourbon, J.R., Jost, A. (1982) Control of glycogen metabolism in the developing fetal lung. Pediatr. Res. 16:50-56.

Brinster, R.L. (1967) Carbon dioxide production from glucose by the preimplantation mouse embryo. Exp. Cell Res. 42:271-277.

Brinster, R.L. (1968) Carbon dioxide production from glucose by the preimplantation rabbit embryo. Exp. Cell Res. 51:330-334.

Brooks, C.M., Koizumi, K. (1980) The hypothalamus and control of integrative processes. 923-947. in: Mountcastle, V. E. (ed.) Medical Physiology. C. V. Mosby Co. St. Louis; 14th edition, vol 1.

Burd, L.I., Jones, M.D., Simmons, M.A., Makowski, E.L., Meschia, G., Battaglia, F.C. (1975) Placental production and foetal utilization of lactate and pyruvate. Nature 254:710-711.

Char, V.C., Creasy, R.K. (1976a) Lactate and pyruvate as fetal metabolic substrates. Pediatric Res. 10:231-234.

Char, V.C., Creasy, R.K. (1976b) Acetate as metabolic substrate in the fetal lamb. Am. J. Physiol. 230(2):357-361.

Comline, R.S., Silver, M. (1966) Development of activity in the adrenal medulla of the foetus and newborn animal. Br. Med. Bull. 22(1):16-20.

Dawkins, M.J.R. (1966) Biochemical aspects of developing function in newborn mammalian liver. Br. Med. Bull. 22:27-33.

Devos, P., Hers, H.G. (1974) Glycogen metabolism in the liver of the fetal rat. Biochem. J. 140:331-340.

Dupouy, J.P., Jost, A. (1969) Aspect ultrastructural de l'accumulation anticipée de glycogene dans le foie du fœtus de rat soumis au cortisol. Arch. anat. micros. morphol. exp. 58(2):183-202.

Edwards, A.V. (1971) The glycogenolytic response to stimulation of the splanchnic nerves in adrenalectomized calves, sheep, dogs, cats and pigs. J. Physiol. 213:741-759.

Edwards, A.V. (1972) The sensitivity of the hepatic glycogenolytic mechanism to stimulation of the splanchnic nerves. J. Physiol. 220:315-334.

Eng, J., Lee, L., Yalow, R.S. (1980) Influence of the age of erythrocytes on their insulin receptors. *Diabetes* 22:164-166.

Erslev, A.J. (1972) Production of erythrocytes. in: *Hematology*. Williams, J.W. y cols. (eds). Mc. Graw Hill. USA. pp:162-174.

Foster, D.M., Jacquez, J.A., Lieb, W.R., Stein, W.D. (1979) A high affinity site for sugar transport at the inner face of the human erythrocyte membrane? *Biochim. Biophys. Acta* 555:349-351.

Frohman, L. (1983) Central nervous system peptides and glucoregulation. *Ann. Rev. Physiol.* 45:95-107.

Fröman, G., Acevedo, F., Lundahl, P., Hjertén, S. (1980) The glucose transport activity of human erythrocyte membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 600:489-501.

Ganong, W.F. (1975) *Review of medical physiology*. 7th edition. Lange Medical Pub. pp:486-492.

Gilbert, M., Bourbon, J. (1980) Effects of acute variations of fetal glycemia on glycogen storage and on glycogen synthase and phosphorylase activities in the liver of the rat fetus. *Diabetes* 22:266-271.

Girard, J.R., Cuendet, G.S., Marliss, E.B., Kervran, A., Rieutort, M., Assan, N. (1973) Fuels, hormones and liver metabolism at term and during the early postnatal period in the rat. *J. Clin. Invest.* 52:3190-3200.

Goodman, M.H. (1980) The pancreas and regulation of metabolism. 1638-1673. in: Mountcastle, V.B. (ed.) *Medical Physiology*. C.V. Mosby Co. St. Louis; 14th edition, vol. 2.

Goodwin, R.F.W. (1954) Blood-sugar in foetal and neonatal mammals. *Nature* 4408:777-778.

Goodwin, R.F.W., Coombs, R.R.A. (1956) The blood groups of the pig. IV. The A antigen-antibody system and haemolytic disease in new-born piglets. *J. Comp. Pathol.* 66:317-331.

Greengard, G. (1968) Enzimic differentiation of fetal rat liver. *J. Cell Biol.* 32:55a.

Greengard, G., Dewey, H.K. (1967) Initiation by glucagon of the premature development of tyrosine aminotransferase, serine dehydratase and glucose-6-phosphatase in the fetal rat liver. *J. Biol. Chem.* 242(12):2986-2991.

Greer, M. A., Solomon, D.H. (eds) (1974) *Handbook of Physiology, Endocrinology section*. vol. 3. The Williams & Wilkins, Co. Baltimore.

Guarner, V. (1986) Estudio de algunos aspectos de la homeostasis de la glucosa en la rata fetal: cambios en la retención de

glucosa y en el contenido de glucosa y glucógeno en distintos órganos. Efectos de la insulina y la adrenalina. Tesis de la Maestría en Ciencias Fisiológicas. UACPyP del CCH, Universidad Nacional Autónoma de México.

Guarner, V., Alvarez-Buylla, R. (1989) Red blood cells and glucose homeostasis in rats. *Diabetes* (en prensa).

Harris, W.H., Kellermayer, R.W. (1972) *The red cell*. Harvard Univ. Press. USA. pp:281-32

Heath, D.F., Rose, J.G. (1969) The distribution of glucose and (<sup>14</sup>C)glucose between erythrocytes and plasma in the rat. *Biochem. J.* **112**:373-377.

Hers, H.G. (1976) The control of glycogen metabolism in the liver. *Ann. Rev. Biochem.* **45**:167-189.

Hitchcock, M.W.S. (1949) Fructose in the sheep fetus. *J. Physiol.* **108**:117-126.

Hoffman, J.F. (1969) The interaction between tritiated ouabain and the Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump in red blood cells. *J. Gen. Physiol.* **54**:3435-3505.

Holman, G.D. (1980) An allosteric pore model for sugar transport in humane erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta* **599**:202-213.

Jacquez, J.A. (1984) Red blood cell as glucose carrier: significance for placental and cerebral glucose transfer. *Am. J. Physiol.* **246** (Regulatory Integrative Comp. Physiol. **15**):R289-R298.

Jost, A. (1966) Problems in fetal endocrinology: the adrenal glands. *Recent Prog. Horm. Res.* **22**:541-569.

Jost, A., Picon, L. (1970) Hormonal control of fetal development and metabolism. *Adv. Metab. Disord.* **4**:123-184.

Jung, Ch.Y., Hsu, T.L., Hah, J.S., Cha, Ch., Haas, M.N. (1980) Glucose transport carrier of human erythrocytes. *J. Biol. Chem.* **255**(2):361-364.

Kadish, A.H., Little, L.R., Sternberg, J.C. (1968) A new and rapid method for the determination of glucose by measurement of the rate of oxygen consumption. *Clin. Chem.* **14**:116-120.

Köhler, E., Peters, H. (1970) Studies on the metabolism of glucose in mammalian embryonic tissue. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **266**:371-372.

Kondo, H. (1975) A light and electron microscopic study on the embryonic development of the rat carotid body. *Am. J. Anat.* **144**:275-294.

Kondo, T., Beutler, E. (1980) Developmental changes in glucose transport of guinea pig erythrocytes. J.Clin. Invest. 65:1-4.

Kotlyar, B.J., Yeroshenko, T. (1971) Hypothalamic glucoreceptors: the phenomenon of plasticity. Physiol. Behav. 2:609-615.

Lessin, L.S., Bessis, M. (1972) Morphology of the erythron. in: Hematology. Williams, J.W. y cols. (eds). Mc. Graw Hill. USA. pp:62-85.

Lin, S., Spudich, J.A. (1974) Biochemical studies on the mode of action of cytochalasin B. Cytochalasin B binding to red cell membrane in relation to glucose transport. J.Biol.Chem. 249:5778-5783.

Mahatma, M., Thomas, H.W. (1979) Can glucose transport across the human erythrocyte membrane be sustained against a concentration gradient? J.Physiol. 296:104P.

Margolis, F.L., Roffi, J., Jost, A. (1966) Norepinephrine methylation in fetal rat adrenals. Science 154:275-276.

Mairbäurl, H., Humpeler, E. (1981) The influence of adrenaline on the metabolism of erythrocytes in *vitro*. Biochem. Soc. Trans. 9(1):99-100.

Mayes, P. (1976) Metabolismo de los carbohidratos. en: Harper, H.A. (ed.) Manual de química fisiológica. Ed. Manual Moderno. México. p:272-310.

Mooney, N.A., Young, J.D. (1978) Nucleoside and glucose transport in erythrocytes from new-born lambs. J.Physiol.Lond. 284:229-239.

Nienhuis, A.W., Benz, E.J. (1977) Regulation of hemoglobin synthesis during the development of the red cell. New Engl.J.Med. 297(24):1318-1328.

Oomura, Y., Ono, T., Ooyama, H., Wayner, M.J. (1964) Reciprocal activities of the ventromedial and lateral hypothalamic areas of cats. Science 143:484-486.

Oomura, Y., Ono, T., Ooyama, H., Wayner, M.J. (1969) Glucose and osmosensitive neurons of the rat hypothalamus. Nature 222:282-284.

Passoneau, J.V., Lauderdale, V.R. (1974) A comparison of three methods of glycogen measurement in tissues. Analyt. Biochem. 60:405-412.

Porte, D.Jr., Woods, S., Chen, M., Smith, P., Ensink, J. (1975) Central factors in the control of insulin and glucagon secretion. Pharmacol. Biochem. Behav. 3:127-133.

Purves, M.J., Biscoe, T.J. (1966) Development of chemoreceptor

activity. Br. Med. Bull. 22(1):56-60.

Guesenberry, B., Levitt, M. (1979) Hematopoietic stem cells. New Engl. J. Med. 301(14):755-760, 819-823, 868-872.

Ramsay, T.G., Sheahan, J.A., Martin, R.J. (1984) Comparison of lactate and glucose metabolism in the developing porcine placenta. Am. J. Physiol. 247 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 161):R755-R760.

Rapaport, S.I. (1971) Introduction to hematology. Harper and Row Pub. USA.

Rosenberg, M. (1969) Fetal Hematopoiesis-Case report. Blood 33(1):66-78.

Schwartz, A.L., Rall, T.W. (1973) Hormonal regulation of glycogen metabolism in neonatal rat liver. Biochem. J. 134:985-993.

Shambaugh, G.E.III, Koehler, R.A., Freinkel, N. (1977) Fetal fuels II: contributions of selected carbon fuels to oxidative metabolism in the rat conceptus. Am. J. Physiol. 233(6):E457-E461.

Shelley, H.J. (1960) Blood sugars and tissue carbohydrate in foetal and infant lambs and rhesus monkeys. J. Physiol. 133:527-552.

Sogin, D.C., Hinkle, P.C. (1980) Immunological identification of the human erythrocyte glucose transporter. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:5725-5729.

Szabo, A., Szabo, O. (1975a) Influence of the insulin sensitive central nervous system glucoregulator receptor on hepatic glucose metabolism. J. Physiol. 253:121-133.

Szabo, O., Szabo, A. (1972) Evidence for an insulin-sensitive receptor in the central nervous system. Am. J. Physiol. 223:1349-1353.

Szabo, O., Szabo, A. (1975b) Studies on the nature and mode of action of the insulin-sensitive glucoregulator receptor in the central nervous system. Diabetes 24:328-336.

Tanimura, T., Shepard, T.H. (1970) Glucose metabolism by rat embryos *in vitro*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (NY) 135:51-54.

Thomas, D.B., Russell, P.M., Yoffey, J.M. (1960) Pattern of haemopoiesis in the foetal liver. Nature 182:876-877.

Thomas, D.B., Yoffey, J.M. (1961) Developmental changes in human foetal blood. J. Physiol. Lond. 152:49P-50P.

Thomas, D.B., Yoffey, J.M. (1962) Human foetal haemopoiesis. I. The cellular composition of foetal blood. Brit. J. Haematol. 8:290-

295.

Thomas, D.B., Yoffey, J.M. (1964) Human foetal haematopoiesis. II. Hepatic haematopoiesis in the human foetus. *Brit. J. Haematol.* 10:193-197.

Thomopoulos, P., Berthellicier, M., Laudat, M.H. (1978) Loss of insulin receptors on maturation of reticulocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 85(4):1460-1465.

Tsoulos, N.G., Colwill, J.R., Battaglia, F.C., Makowski, E.L., Meschia, G. (1971) Comparison of glucose, fructose and O<sub>2</sub> uptakes by fetuses of fed and starved ewes. *Am. J. Physiol.* 221:234-237.

Ungar, A., Phillips, J.H. (1983) Regulation of the adrenal medulla. *Physiol. Rev.* 63(3):787-843.

Van Hoof, F. (1967) Amylo, 1-6 glucosidase activity and glycogen content of the erythrocytes of normal subjects, patients with glycogen storage disease and heterozygotes. *European J. Biochem.* 2:271-274.

Wagner, R., Zimmer, G., Lacko, L. (1984) An interspecies approach to the investigation of the red cell membrane glucose transporter. *Biochim. Biophys. Acta* 771:99-102.

Walker, D. W. (1984) Peripheral and central chemoreceptors in the fetus and newborn. *Ann. Rev. Physiol.* 46:687-703.

Wheeler, T.J., Hinkle, P.C. (1981) Kinetic properties of the reconstituted glucose transporter from human erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 256(17):8907-8914.

Widdas, W.F. (1955) Hexose permeability of foetal erythrocytes. *J. Physiol.* 122:318-327.

Wood, W.G. (1976) Haemoglobin synthesis during human fetal development. *Br. Med. Bull.* 32:282-287.

Woods, S.C. (1972) Conditioned hypoglycemia: effect of vagotomy and pharmacological blockade. *Am. J. Physiol.* 223:1424-1427.

Woods, S.C., Porte, D.Jr. (1974) Neural control of endocrine pancreas. *Physiol. Rev.* 54(3):596-619.

Yeung, D., Oliver, I.T. (1967) Development of gluconeogenesis in neonatal rat liver. *Biochem. J.* 105:1229-1233.

Zoccoli, M.A., Baldwin, S.A., Leinhard, G.E. (1978) The monosaccharide transport system of the human erythrocyte. *J. Biol. Chem.* 253:6923-6930.

## APENDICE

### Determinación de la capacidad de los eritroblastos de distintas edades fetales y de los eritrocitos adultos para compensar disminuciones en la concentración de glucosa en el plasma

Los resultados presentados en esta tesis no mostraron que los eritroblastos fetales liberen glucosa al medio cuando su concentración es baja. Esto se debe posiblemente a que los glóbulos rojos tienden a absorber glucosa al ser incubados (tabla V), de manera que la capacidad de liberar este carbohidrato se ve encubierta por la tendencia a absorberlo. Es posible también que las reservas de glucógeno no sean suficientes para mantener el metabolismo celular y liberar glucosa al medio y que, en condiciones de escasez, se utilicen principalmente para mantener la vida celular.

Para conocer si los eritroblastos son capaces de liberar glucosa a los tejidos cuando la concentración en el medio que los rodea es baja se repitieron los experimentos de incubación de los eritroblastos en medios que no contenían glucosa (0mg/dl), pero con un periodo de preincubación previo de 15 minutos en suero glucosado al 5% (5000 mg/dl), para asegurar que las reservas de glucógeno de estas células se encontraran llenas.

Se observó que después del periodo de preincubación los eritroblastos fetales fueron capaces de liberar el doble de glucosa al medio que carece de este carbohidrato que los eritrocitos adultos. La concentración de glucosa en los glóbulos rojos que no cambiaba significativamente sin el periodo de

preincubación, disminuyó enormemente en los eritroblastos fetales y permaneció constante en los eritrocitos adultos después de este período. La concentración de glucógeno en los glóbulos rojos que había mostrado una tendencia a disminuir en mayor proporción en las células fetales que en las adultas sin el período de preincubación, al pasar por este período, mostró un decremento mucho mayor. La disminución fue grande en los fetos de 17 días, decreció hacia el día 21 y continuó disminuyendo en el adulto (tabla XI).

Estos datos indican que los eritroblastos, además de facilitar el transporte de glucosa en la placenta al absorber glucosa cuando su concentración en el medio es alta, participan en la homeostasis de la glucosa fetal aportando este carbohidrato a los tejidos cuando su concentración en el líquido extracelular disminuye.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Tabla IX Capacidad de los glóbulos rojos fetales y adultos para liberar glucosa a medios que carecen de ella (0 mg/100 ml) con y sin un período previo de preincubación en un medio rico en glucosa (5000 mg/100 ml).

	Días de gestación		Adulto
	17	21	
<u>GLUCOSA EN EL MEDIO</u>			
Preincubación - antes de incubar	0 (6)	0 (6)	0 (6)
después de incubar	3.5±0.4 (6)	4.5±0.7 (6)	15.6±1.6 (6)
Δ	3.5	4.5	15.6
Preincubación + antes de incubar	0 (3)	0 (6)	0 (6)
después de incubar	624.0±11.4 (3)	630.5±7.3 (6)	396.5±12.0 (6)
Δ	624	630	396
<u>GLUCOSA EN LOS GLOBULOS ROJOS</u>			
Preincubación - antes de incubar	86.7± 7.7 (6)	73.3± 7.7 (6)	132.0±12.1 (6)
después de incubar	86.7± 6.1 (6)	83.3± 9.9 (6)	128.0± 4.4 (6)
Δ	0	-10	4
Preincubación + antes de incubar	2820.0± 53.6 (4)	1550.0±95.6 (3)	410.0±23.4 (4)
después de incubar	730.0±110.0 (4)	900.5±60.9 (6)	410.0±11.3 (6)
Δ	2090	649	0
<u>GLUCOGENO EN LOS GLOBULOS ROJOS</u>			
Preincubación - antes de incubar	390.0± 29.3 (6)	343.3±11.9 (6)	468.5±58.1 (6)
después de incubar	230.0± 24.3 (6)	183.3±20.8 (6)	352.0±73.5 (6)
Δ	160	160	116
Preincubación + antes de incubar	580.0±149.0 (4)	760.0±70.0 (3)	775.5±81.5 (4)
después de incubar	320.0± 69.8 (3)	600.0±55.1 (3)	625.0±61.2 (6)
Δ	260	160	150

Los valores son la media ± e.e. En paréntesis el número de determinaciones.