

Don.
de la

JUNTA PARA AMPLIACIÓN DE ESTUDIOS É INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Anales: Tomo XVII

Memoria 6.^a

INVESTIGACIONES ACERCA DEL
METABOLISMO DE LOS HIDRATOS
DE CARBONO EN EL HÍGADO
SUPERVIVIENTE DEL PERRO

POR

ISAAC ABELIN Y JOSÉ MARÍA DE CORRAL



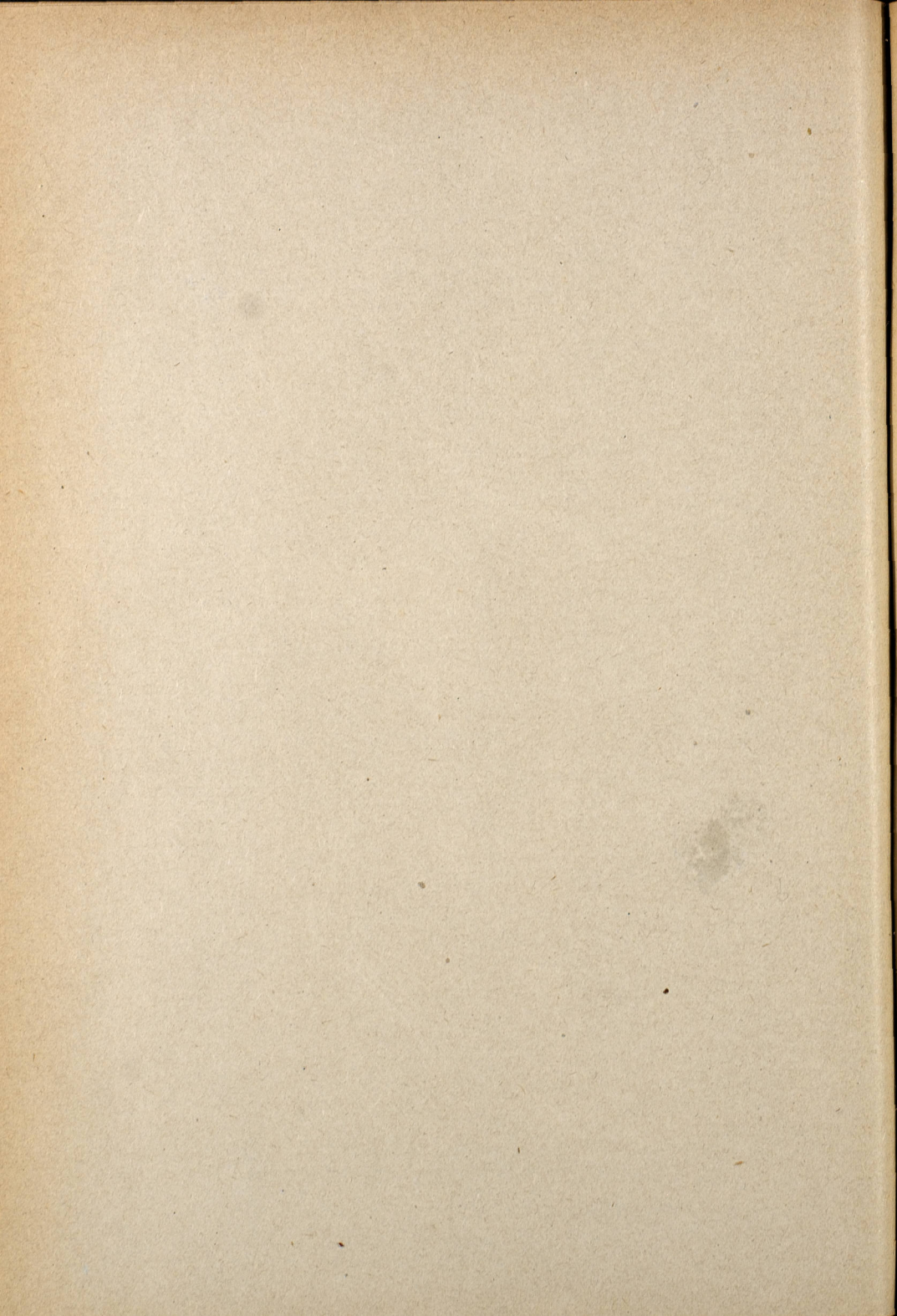
(Trabajo del Instituto de Fisiología de Berna.)

MADRID

1919

Un ilustre Profesor de la Universidad de Buenos Aires, el Dr. Abelino Gutiérrez, hizo en 1912-13 un donativo de 24.000 pesetas a la Junta para ampliación de estudios con destino a tres pensiones de jóvenes españoles en el extranjero.

Esa generosidad de un sincero amante de España, permitió al Sr. Corral hacer en los Laboratorios del Instituto de Fisiología, de Berna, en los años 1916 y 1917, en unión del Sr. Abelin, investigaciones de que ofrecen aquí una modesta muestra.



INVESTIGACIONES ACERCA DEL METABOLISMO
DE LOS HIDRATOS DE CARBONO
EN EL HÍGADO SUPERVIVIENTE DEL PERRO



Son muchos los trabajos que se han hecho en este Instituto acerca de la acción que los productos de desintegración de los albuminoides —especialmente la peptona (2)— pueden ejercer sobre la actividad del hígado y, en particular, sobre el metabolismo de sus hidratos de carbono.

Asher y Barbera (3) han demostrado que la inyección intravenosa de peptona puede ocasionar un aumento muy considerable de la excreción de la bilis. Relacionaban este hecho con el aumento en la formación de la linfa que produce también la inyección de peptona, aumento que, según Starling (4) ha pro-

(1) Esta Memoria fué remitida a la Junta en Julio de 1917. Ha sido publicada ya en alemán en *Biochemische Zeitschrift*, 88, 62; Berlín, 1917.

(2) Advertiremos de una vez para siempre que con la palabra «peptona» hacemos referencia a las peptonas comerciales (peptona de Witte, cuando no se diga otra cosa), y no a las peptonas químicas. Como es sabido, las peptonas comerciales son una mezcla de distintos productos en los que a veces faltan las peptonas químicas, y aun no se sabe a cuál de estos productos se debe la acción fisiológica. Pick y Spiro, estudiando la acción anticoagulante y tóxica de las peptonas comerciales, llegaban a la conclusión, a primera vista paradójica, de que hay peptonas sin acción fisiológica de peptonas, y acción fisiológica de peptonas sin peptonas. Se ha atribuido la acción fisiológica de las peptonas comerciales a una substancia especial que Hofmeister ha llamado «peptocima» (Peptozym); Popielski, «vaso-dilatina», y Richet, «congestina».

(3) Asher y Barbera: *Zeitschr. f. Biologie*, 18, 154; 1897.

(4) Starling: *Fourn. of Physiology*, 17, 37; 1894.

bado, se verifica en el hígado. Tanto el aumento de la excreción de bilis, como el de la formación de linfa, serían signos de un aumento de la actividad hepática, en conformidad con la teoría de Asher acerca de la formación de la linfa. A. Loeb (1) ha llegado igualmente a la conclusión de que la peptona produce una excitación en el hígado. En el perro con fístula biliar ha podido demostrar que la ingestión de peptona daba lugar a una elevada excreción biliar.

Pletnew (2) ha encontrado que bajo la influencia de la peptona el límite de asimilación del azúcar desciende en el perro, al mismo tiempo que aparece materia colorante biliar en la orina.

Las investigaciones de Tschannen (3) demostraron que la peptona, dada como única alimentación, hace que el hígado de las ratas prácticamente quede sin glucógeno. Aunque se añadan a las peptonas pequeñas cantidades de hidratos de carbono, sólo aparecen en el hígado pequeñas cantidades de glucógeno. Únicamente dosis muy grandes de azúcar, o de caseína, pueden contrarrestar la acción de la peptona.

Tschannen observaba también, como Pletnew, la aparición de materia colorante biliar tras de la ingestión de la peptona.

Todas estas investigaciones fueron hechas en animales vivos. Era de interés investigar también cómo se conducía el hígado superviviente, y Richardson (4) hizo algunas observaciones en este sentido. Para ello eligió el hígado de la tortuga, porque éste, según los trabajos de Gruber, es mucho más fácil de sostener en estado de supervivencia que el hígado de los homeotermas. Además, el hígado de tortuga tiene la gran ventaja de que permite hacer simultáneamente en el mismo hígado dos observaciones paralelas. Las dos mitades del hígado, en efecto, se encuentran funcionalmente separadas la una de la otra de una manera com-

(1) A. Loeb: *Zeitschr. f. Biologie*, 55.

(2) Pletnew: *Biochem. Zeitschrift*, 21, 355; 1909.

(3) Tschannen: *Biochem. Zeitschrift*, 59, 202, 1914.

(4) Richardson: *Biochem. Zeitschrift*, 70, 171; 1915.

pleta, y se puede hacer la circulación artificial de ellas por separado. Richardson llegaba a la conclusión de que la circulación artificial, a través del hígado de tortuga, de una solución azucarada de Ringer conteniendo peptona, paraliza la formación de glucógeno de una manera marcada.

Como continuación y ampliación de todos estos trabajos era muy interesante estudiar la acción de la peptona sobre el glucógeno del hígado superviviente de los homeotermas. Uno de nosotros (1) ha hallado que la circulación artificial del hígado del conejo con una solución Tyrode peptonada no ejerce ninguna influencia apreciable sobre el contenido en glucógeno del hígado. La peptona ni disminuye las existencias del glucógeno del hígado, ni aumenta el contenido en azúcar de la solución circulante.

El hígado del conejo, pues, en estas investigaciones de Abelin se muestra diferente del hígado de la tortuga en lo que a esto se refiere. Y diferente también del hígado de la rata y del perro.

Podría explicarse esta diferencia advirtiéndole que el hígado del conejo no reacciona ante la peptona, gracias a una propiedad específica. Sería éste un nuevo fenómeno de la inmunidad del conejo contra la peptona que habría que añadir a los ya conocidos. Se sabe, en efecto, desde los trabajos de Gley (2) y de Persano (3), que la peptona, que inyectada intravenosamente al perro hace su sangre incoagulable, apenas si produce efecto en el conejo. También es muy difícil, y a veces de todo punto imposible, provocar en el conejo el descenso de la presión sanguínea y la postración del animal, que una inyección intravenosa de peptona produce constantemente en el perro si la dosis inyectada es suficiente (4).

(1) Abelin: *Biochem. Zeitschrift*, 71, 248; 1916.

(2) Gley: *Compt. rend. de la Société de Biologie*, 48, 658, 1896.

(3) Persano: *Arch. int. de Biologie*, 37, 1902.

(4) Arthus: *La Presse médicale*, pág. 305; 1909.

Y recordaremos que tanto estos fenómenos como el de la incoagulabilidad de la sangre—que unidos forman un síndrome tan análogo al del shock anafiláctico (1)— son procesos vitales en los que el hígado toma una parte muy activa.

Se comprende que la peptona no expulse tampoco el glucógeno del hígado inmune del conejo; pero para más seguridad hemos creído necesario hacer algunas investigaciones en el hígado superviviente del perro para evitar la duda de que los resultados de Abelin fuesen debidos a algún defecto de la técnica que empleaba y estudiar así mejor el mecanismo de la acción de la peptona sobre el metabolismo de los hidratos de carbono del hígado.

En el trabajo citado, Abelin investigó, además, la acción de la adrenalina sobre el glucógeno del hígado superviviente del conejo cuando se la hacía circular artificialmente por este órgano. La adrenalina en inyección subcutánea, según sabemos por las investigaciones tan importantes que inauguró Blum con su célebre trabajo (2), expulsa el glucógeno del hígado y produce una hiperglucemia. En inyección intravenosa aplicada de modo continuo, esta acción de la adrenalina es aún más enérgica, según los trabajos de Ritzmann (3) hechos en el Laboratorio de Straub.

Era, pues, de esperar que la adición de adrenalina al líquido con el que se hace la circulación artificial disminuyera el contenido en glucógeno del hígado de una manera marcada. Sin embargo, en los experimentos de Abelin, ni el glucógeno del hígado disminuyó, ni aumentó el contenido en azúcar del líquido circulante que llevaba adrenalina. Con objeto de continuar este estudio, hemos hecho ahora un experimento en el perro acerca de la acción de la adrenalina sobre el hígado superviviente.

(1) Biedl y Kraus, en *Handb. d. Techn. u. Meth. d. Immunitäts-Forschung*.—De Kraus y Levaditi: *Ergänzungs Band*, pág. 255; Jena, 1911.

(2) Blum: *Deutsch. Arch. f. klin. Medizin*, pág. 71; 1901.

(3) Ritzmann: *Münch. med. Wochenschrift*; 1909; *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakologie*, 61, 231; 1909.

En nuestras investigaciones hemos usado la siguiente técnica, que es la misma que usó Abelin en el conejo:

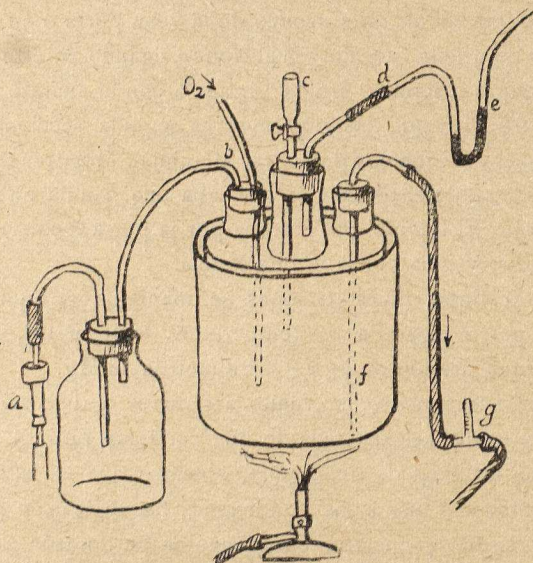
El perro, anestesiado con éter, era traqueotomizado y se aislaban las carótidas primitivas. Abríamos después el abdomen y colocábamos una cánula en el tronco de la vena porta o en una de las ramas de origen que afluyen al tronco, ligando en este último caso las ramas restantes. Unida la cánula con el aparato de circulación artificial, que describiremos en seguida, seccionábamos las carótidas y dejábamos desangrar al animal. Mientras tanto, se abría rápidamente el tórax y se colocaba una cánula en la vena cava inferior. El líquido que entraba por la porta recorría entonces el hígado y salía por la última cánula.

En las distintas investigaciones se mantenía el líquido que circulaba por el hígado a una temperatura de 38° a 40°, y circulaba bajo una presión de 25 a 35 milímetros de Hg.

Aunque actualmente ha vuelto a ponerse a discusión hasta qué punto es útil la existencia de una corriente pulsátil para la circulación artificial de un órgano, creemos que en esta forma nos aproximamos más a las condiciones fisiológicas, y por ello hemos utilizado en nuestros experimentos un corazón artificial.

Éste le hemos construido con medios relativamente simples. El líquido que ha de circular le colocamos en un frasco Woulff de tres bocas (véase la figura adjunta), que se sumerge en un baño de agua mantenido a una temperatura constante. Una de las bocas de este frasco lleva un tubo de vidrio sumergido hasta el fondo, y que se pone en comunicación con la cánula de la vena porta por medio de un tubo de caucho que lleva intercalado un termómetro *g* en forma de T. Por otra de las tubuladuras del frasco entra un tubo que se pone en comunicación con una bomba de oxígeno, con objeto de que el líquido circulante se sature de este gas, condición indispensable para la circulación artificial. A esta misma boca del frasco de Woulff viene a parar un tubo *b*, por donde ha de actuar sobre el líquido la fuerza que le impele a circular. Y por la otra boca atraviesan un embudo *c*, para llenar el frasco de líquido, y un tubo en unión con un ma-

nómetro de mercurio *e*, que nos marca la presión con que el líquido es expulsado del frasco. Como fuerza impulsiva hemos utilizado la corriente de aire del aparato de respiración artificial de



Kronecker. La corriente de este aparato es interrumpida, como es sabido, por los cangilones en balancín, que permiten hacer una regulación de la frecuencia de las interrupciones.

El aparato de respiración se pone en comunicación con el tubo *b* por intermedio de un gran frasco de 10 litros de capacidad (reducido de tamaño en la figura en proporción con los otros aparatos) y de una válvula respiratoria *a* que cierra la comunicación con el aparato de respiración cuando en él desciende la presión. La válvula tiene por objeto impedir que la presión que se ejerce sobre el líquido descienda desde su valor máximo a 0, y el frasco el mantener una cierta presión media en el sistema.

Como líquido para la circulación utilizamos una solución de Tyrode, que se preparaba cada día en el momento del experimento.

Los experimentos eran hechos del siguiente modo: lavábamos primero el hígado *in situ*, haciendo circular por él durante algún tiempo solución de Tyrode, y determinábamos el contenido en azúcar del líquido del lavado. Después de este lavado ligábamos cuidadosamente con hilo de algodón un lóbulo del hígado, le seccionábamos, e inmediatamente empezábamos las operaciones necesarias para determinar su contenido en glucógeno. En seguida empezábamos la circulación con el líquido que investigábamos, y recogíamos también el líquido del lavado para analizar su azúcar. De este modo podía saberse si el líquido había influido en la desintegración del glucógeno, y en qué sentido.

Terminábamos el experimento separando el hígado que había quedado y analizando su contenido en glucógeno. Por comparación con la cantidad de glucógeno hallada en el lóbulo separado antes, podíamos determinar la disminución de glucógeno que hubiera podido existir.

El glucógeno del hígado lo determinamos siguiendo el método de Pflüger, y el azúcar de los líquidos del lavado, según el método de Bertrand, en la forma usada en anteriores trabajos de este Instituto (1).

Para desalbuminar los líquidos del lavado, utilizamos el hidrato de hierro coloidal según el procedimiento, de Michaelis y Rona, y en los líquidos con peptona, con objeto de separar también ésta, el nitrato de mercurio según el método de Patein y Dufau (2).

Unicamente queremos señalar acerca de esto que en el método de Michaelis y Rona hemos utilizado, con excelentes resultados, el acetato sódico como electrolito, para favorecer la precipitación de la unión albúmina-hierro. La formación de copos del coloide que produce el acetato no es debida a la débil reacción

(1) Véase una descripción detallada de las técnicas en Tschannen, *l. c.*

(2) *Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden* de Abderhalden, 2, pág. 686; Berlín-Viena, 1910.

alcalina de esta sal, puesto que tanto la adición de carbonato como la de bicarbonato sódico se nos han mostrado ineficaces. En este caso no se puede usar el sulfato magnésico preconizado por los mismos autores, y que, por otra parte, sería muy recomendable, porque al hervir después el líquido con la solución de tartrato alcalino precipitaría al estado de hidrato magnésico y el precipitado impurificaría al de óxido cuproso.

Si comparamos los resultados de los experimentos que vamos ahora a reseñar con los resultados de aquellos que hizo Abelin en el conejo, resulta que la peptona disminuye en el perro en mucho mayor grado que en el conejo la cantidad de glucógeno del hígado superviviente.

En el experimento I vemos que la circulación por el hígado de una solución de Tyrode con 3 por 100 de peptona, durante ochenta y cinco minutos ocasiona una disminución del glucógeno del hígado, que le hace bajar de 15,90 por 100 a 11,80 por 100. En cambio, en el conejo bajaba sólo de 7,34 por 100 a 7,10 por 100 en un experimento y de 5,52 por 100 a 4,50 por 100 en otro. (El experimento 8 y el 9 del trabajo citado de Abelin, pág. 263.)

En el experimento II tiene también lugar una fuerte disminución del glucógeno, que baja de 0,092 por 100 a 0,028 por 100; por tanto, se reduce a casi la cuarta parte. Pero este experimento no tiene, sin embargo, gran fuerza demostrativa, ya que por causa desconocida el contenido en glucógeno del hígado era anormalmente bajo. En el lóbulo separado del hígado, que pesaba 20,9 gramos, sólo hallábamos, en efecto, 0,019 gramos de glucógeno, y en el resto del hígado, que pesó 206 gramos, sólo 0,06 de glucógeno. Números, por tanto, demasiado pequeños para que, dados los errores del método, pueda dárseles demasiada importancia. El líquido del lavado sin peptona sólo tenía un 0,08 por 100 de azúcar. Y por eso no tiene nada de extraño que el líquido con peptona no tuviera mas que indicios no dosificables de azúcar.

El experimento III es, en cambio, completamente demostrativo.

El contenido en glucógeno del hígado baja de 4,72 por 100 a 3,18 por 100 con hacer circular durante cuarenta y siete minutos solución Tyrode con peptona. Además, durante la primera circulación de Tyrode sin peptona, que duró trece minutos, el líquido aumentó su contenido en azúcar en 0,39 por 100. Ya en los diez y seis minutos siguientes el aumento del contenido en azúcar del mismo líquido fué sólo de 0,241 por 100. Empezamos entonces a hacer pasar, por el hígado, Tyrode con peptona, y el aumento de azúcar del líquido circulante ascendió de 0,241 a 0,414 por 100. Y prueba de que no se trataba de un aumento ocasionado porque el hígado hubiera muerto o porque se hubiera disminuído al menos su vitalidad, con lo que el glucógeno habría dejado de ser retenido, es que en el segundo período en que circuló el líquido con peptona el azúcar que separó del hígado el líquido fué sólo de 0,292 por 100.

La solución de Tyrode sin peptona separa del hígado una cantidad de glucosa equivalente a 3,80 gramos de glucógeno, y la solución de Tyrode con peptona, 5,46 gramos. Es cierto que el lavado con este último líquido duró ocho minutos más que el hecho con la solución Tyrode sin peptona; pero, en cambio, hay que tener en cuenta que la peptona obró sobre el hígado cuando éste tenía menor cantidad de glucógeno y, además, no sobre todo el hígado, como el líquido sin peptona, puesto que se había ya separado un lóbulo que pesó 44,5 gramos.

Este experimento prueba que la circulación con peptona ejerce un estímulo sobre el hígado superviviente del perro, estímulo que produce un aumento sobre la desintegración del glucógeno. En conformidad con lo que Tschannen había observado en las ratas (en el animal *in toto*) y Richardson en el hígado superviviente de la tortuga.

En el experimento IV se estudió la influencia de la adrenalina al circular artificialmente a través del hígado superviviente del perro. Y en él vemos lo mismo que observó Abelin en el conejo, es decir, que la adrenalina no ejerce una acción apreciable sobre el glucógeno del hígado. En los veinticinco minutos que

circuló por el hígado la solución Tyrode fueron separados 3,58 gramos de glucógeno del hígado, y en los treinta y tres minutos que circuló la adrenalina fueron lavados 1,35 gramos de glucógeno.

El contenido en glucógeno del hígado antes de la circulación de la adrenalina se diferenció sólo en 0,43 por 100 del contenido en glucógeno después de la circulación. Diferencia a la que no podemos conceder valor dentro de los errores del método.

De este experimento y de los dos aportados anteriormente por Abelin podría deducirse que la acción de la adrenalina sobre el glucógeno del hígado es un complicado proceso vital que se verifica únicamente en el organismo intacto y que falta en el hígado superviviente. Y podría relacionarse este hecho con las interesantes observaciones de Hofmeister sobre el mecanismo histofisiológico de la desaparición del glucógeno, y con los hallazgos de Macleod y Pearce (1) acerca del efecto que sobre el glucógeno ejerce la excitación de los nervios que acompañan a la vena porta, cuando se conservan las cápsulas suprarrenales y cuando éstas se han extirpado.

Estas investigaciones con adrenalina nos indican, además, que con nuestra técnica las células del hígado conservan un cierto grado de vitalidad, ya que si no el glucógeno del hígado hubiera desaparecido.

Pero esto lo prueban de un modo más concluyente los experimentos *contrôle*, de Abelin (2), en el conejo, que demuestran que la circulación con Tyrode no es ningún momento desfavorable para que el hígado pierda su glucógeno.

Y lo mismo estos experimentos de Abelin que los de la adrenalina son, por tanto, un fuerte apoyo para los resultados de nuestros experimentos de circulación con peptona.

(1) Macleod y Pearce: *Proceed., Soc. Exper. Biol. and Med.*, 8, páginas 19 a 21.

(2) Abelin, *l. c.*: *Experimentos*, 2, 3 y 4.

Experimento I.

Perro, de sexo masculino: La cánula de entrada se colocó en una de las ramas de la porta. Temperatura del líquido circulante, $38^{\circ},5$. Presión, 35 mm de Hg. Primero se hace circular por el hígado un litro de Tyrode sin azúcar, se separa un lóbulo del hígado y se hacen pasar por el hígado, durante ochenta y cinco minutos, 2400 cm^3 de una solución de Tyrode con 3 por 100 de peptona. Terminada la circulación, se separa el hígado y se determina su contenido en glucógeno.

Análisis: Valoración de la solución de $\text{Mn O}_4 \text{ K}$.— 1 cm^3 corresponde exactamente a 10 mg de cobre.

Solución de peptona.—Desalbuminación, según Patein y Dufau: 100 cm^3 de solución de peptona + 50 cm^3 de solución de $(\text{NO}_3)_2$ Hg + álcali + agua destilada, hasta hacer 200 cm^3 .

Veinte cm^3 del filtrado, ya exento de Hg, gastaban $5,05\text{ cm}^3$, con el método de Bertrand, de $\text{Mn O}_4 \text{ K}$. *Contrôle*, $5,10\text{ cm}^3$. Media, $5,075\text{ cm}^3$. Contenido en azúcar, $0,256$ por 100. Por tanto, con los 2400 cm^3 de la solución de peptona que se emplearon en el lavado, se separaron del hígado $6,14$ gramos de glucosa, equivalentes a $5,7$ gramos de glucógeno.

Lóbulo del hígado.—Peso, $32,2$ gramos. Determinación de glucógeno, según Pflüger: después de hervir el lóbulo con potasa, precipitar el glucógeno e hidrolizar éste con ácido clorhídrico, se diluyó el contenido del matraz hasta hacer 500 cm^3 . Se hizo la determinación de azúcar tomando 5 cm^3 de esta solución, y se gastaron $10,4\text{ cm}^3$ de $\text{Mn O}_4 \text{ K}$. *Contrôle*, $10,5\text{ cm}^3$. Media, $10,45\text{ cm}^3$. Contenido en glucógeno, $15,9$ por 100.

Hígado.—Peso, 275 gramos; para el análisis se utilizan 252 gramos. Determinación del glucógeno, según Pflüger: el líquido hidrolizado se diluyó hasta 1000 cm^3 , 100 cm^3 de esta solución se

diluyeron nuevamente hasta hacer 500, y de esta última dilución se analizaron 10 cm³. Mn O₄ K gastado, 11,9 cm³. *Contrôle*, 12,1 cm³. Media, 12,0 cm³. Contenido en glucógeno, 11,80 por 100.

Experimento II.

Perro, de 8,7 kg de peso. Se hace la circulación con solución Tyrode, sin azúcar (líquido 1); después se ata y separa un lóbulo del hígado y se hace circular Tyrode sin azúcar, que lleva en solución un 3 por 100 de peptona (líquido 2). Terminada la circulación, se separa el hígado. Análisis del glucógeno del lóbulo del hígado y del hígado restante. Temperatura del líquido circulante, 39 a 40°. Presión, 25 a 27 mm de Hg.

Valoración de la solución de Mn O₄ K.—1 cm³ corresponde exactamente a 10 mg de cobre.

Líquido 1.—Duración de la circulación artificial, veinte minutos. Cantidad de líquido circulada, 1050 cm³. Desalbuminación, según Rona: 100 cm³ de líquido + 15 cm³ Fe (OH)₃ + 10 cm³ H₂O = 20 cm³ del filtrado, consumen 2,5 cm³ de Mn O₄ K. *Contrôle*, 2,5 cm³. Cantidad de azúcar, 0,077 por 100. Con los 1050 cm³ que circularon fueron, pues, arrastrados 0,81 gramos de azúcar, que corresponden a 0,75 gramos de glucógeno.

Líquido 2.—Duración de la circulación: ochenta minutos. Cantidad circulada, 2420 cm³. Desalbuminación, según Patein y Dufau: 100 cm³ + 50 cm³ (NO₃)₂ Hg + álcali + H₂O hasta hacer 200 cm³. Se analizan 20 cm³ del filtrado, y se encuentran sólo indicios no dosificables de azúcar.

Lóbulo del hígado.—Peso, 24 gramos; para el análisis se utilizan 20,9 gramos. Determinación del glucógeno, según Pflüger: gasta en total 4,14 cm³ de Mn O₄ K, correspondientes a 0,0207 gr de azúcar, o a 0,0192 gramos de glucógeno. Contenido en glucógeno, 0,0918 por 100.

Hígado.—Peso, 265,5 gramos, de los cuales se analizan 206.

Gasta en total 12,02 cm³ de MnO₄K, correspondientes a 0,0643 gramos de azúcar y a 0,0596 gr de glucógeno. Contenido en glucógeno del hígado, 0,0289 por 100.

Experimento III.

Perro, de 11,8 kg de peso. Se lavó el hígado total con solución de Tyrode con azúcar. Durante los trece primeros minutos se recogieron, 875 cm³ (líquido 1); durante los diez y seis minutos siguientes 260 cm³ (líquido 2). Se ató después y se separó un lóbulo del hígado y se empezó la circulación artificial con la solución de Tyrode peptonada. Durante los primeros treinta minutos se recogieron 1005 cm³ (líquido 3); durante los diez y siete minutos siguientes, 605 cm³ (líquido 4). Se separó el resto del hígado y se analizó su glucógeno, así como el del lóbulo. Temperatura del líquido circulante, 38 a 39°. Presión, 30 mm de Hg.

Valoración de la solución de MnO₄K.—1 cm³ corresponde a 9,5 mgr de cobre.

Análisis de la solución de Tyrode antes de circular por el hígado.—20 cm³ gastaron 4,05 cm³ de MnO₄K. 20 cm³ gastaron 4,30. Media, 4,18 cm³. Cantidad de azúcar, 0,099 por 100.

Líquido 1.—Desalbuminación, según Michaelis y Rona: 100 cm³ + 20 cm³ Fe(OH)₃ + 5 cm³ H₂O + acetato sódico (sólido). 20 cm³ de esta mezcla filtrada gastaron 15,3 cm³ de MnO₄K. *Contrôle*, 15,2 cm³. Media, 15,25. Cantidad de azúcar, 0,496 por 100.

Líquido 2.—100 cm³ + 20 cm³ de Fe(OH)₃ + 5 cm³ de H₂O + acetato sódico (sólido). 10 cm³ del líquido filtrado gastaron 10,85 cm³ de MnO₄K. *Contrôle*, 10,80 cm³. Media, 10,825. Cantidad de azúcar, 0,34 por 100.

Con los líquidos 1 y 2 fueron separados del hígado en total 4,10 gramos de glucosa, equivalentes a 3,80 gramos de glucógeno.

Líquido 3.—Desalbuminación, según Patein y Dufau: $100\text{ cm}^3 + 40\text{ cm}^3 (\text{NO}_3)_2\text{Hg} + \text{álcali} + \text{agua}$ hasta hacer 200 cm^3 . 10 cm^3 del filtrado gastaron 5,55 de MnO_4K . *Contrôle*, 5,40. Media, 5,48. Cantidad de azúcar, 0,526 por 100.

Líquido 4.— $100\text{ cm}^3 + 40\text{ cm}^3 (\text{NO}_3)_2\text{Hg} + \text{álcali} + \text{agua}$ hasta hacer 200 cm^3 . 10 cm^3 del filtrado necesitaron $4,22\text{ cm}^3$ de MnO_4K . *Contrôle*, $4,30\text{ cm}^3$. Media, $4,26\text{ cm}^3$. Cantidad de azúcar, 0,404 por 100.

Por los líquidos 3 y 4 fueron separados en total del hígado 5,89 gr de azúcar, equivalentes a 5,46 gr de glucógeno.

Análisis de la solución de peptona antes de la circulación por el hígado.— $100\text{ cm}^3 + 40\text{ cm}^3 (\text{NO}_3)_2\text{Hg} + \text{álcali} + \text{agua}$ hasta hacer 200 cm^3 . 20 cm^3 del filtrado gastaron $2,4\text{ cm}^3$ de MnO_4K . *Contrôle*, $2,4\text{ cm}^3$. Cantidad de azúcar, 0,112 por 100.

Determinación del glucógeno del lóbulo del hígado.—Peso del lóbulo, 44,5 gramos. Se diluyó hasta 500 cm^3 . Se analizan 20 cm^3 , que gastan $17,25\text{ cm}^3$ de MnO_4K . *Contrôle*, $17,15\text{ cm}^3$. Media, $17,20\text{ cm}^3$. Cantidad de glucógeno, 4,72 por 100.

Determinación del glucógeno del hígado.—Peso del hígado, 471 gramos. Se diluyó hasta 1000 cm^3 . 250 cm^3 de esta dilución se diluyen nuevamente hasta hacer 500 cm^3 ; y de éstos se analizan 10 cm^3 , que gastan $15,4\text{ cm}^3$ de MnO_4K . *Contrôle*, $15,6\text{ cm}^3$. Media, $15,5\text{ cm}^3$. Cantidad de glucógeno, 3,176 por 100,

Experimento IV.

Perro, de 7 kg de peso. Circulación artificial del hígado con solución Tyrode glucosada. Durante los diez y ocho primeros minutos circularon 705 cm^3 (líquido 1), y durante los siete minutos siguientes, 975 cm^3 (líquido 2). Después se ató y separó un lóbulo del hígado, y se empezó la circulación con solución de Tyrode con adrenalina (1970 cm^3 de la solución Tyrode glucosada se mezclaron con 15 cm^3 de la solución de adrenalina al

I por 1000). Durante diez y ocho minutos circularon 630 cm³ (líquido 3), y durante los quince minutos siguientes 525 cm³ (líquido 4). Se separó el resto del hígado y se analizó su glucógeno, así como el del lóbulo antes separado. Temperatura del líquido circulante, 38°. Presión, 25 a 30 mm de Hg.

Se usó la misma solución de permanganato que en el experimento III.

Análisis de la solución Tyrode antes de circular por el hígado.

20 cm³ gastaron 3,67 cm³ de MnO₄K. *Contrôle*, 3,70. Media, 3,69. Cantidad de azúcar, 0,087 por 100.

Líquido 1.—Desalbuminación, según Michaelis y Rona: 100 cm³ + 25 cm³ Fe(OH)₃ + acetato sódico (sólido). 20 cm³ de esta mezcla filtrada gastaron 14,65 cm³. *Contrôle*, 14,90 cm³. Media, 14,80 cm³. Contenido en azúcar, 0,459 por 100.

Líquido 2.—100 cm³ + 25 cm³ de Fe(OH)₃ + acetato sódico (sólido). 20 cm³ del filtrado gastaron 7,5 cm³ de MnO₄K. *Contrôle*, 7,2 cm³. Media: 7,35 cm³. Cantidad de azúcar, 0,215 por 100.

Con los líquidos 1 y 2 fueron arrastrados del hígado 3,86 gramos de glucosa, equivalentes a 3,58 gramos de glucógeno.

Líquido 3.—100 cm³ + 25 cm³ de Fe(OH)₃ + acetato sódico. 20 cm³ del filtrado gastaron 8,85 cm³ de MnO₄K. *Contrôle*, 9,10 cm³. Media, 8,93 cm³. Cantidad de azúcar, 0,265 por 100.

Líquido 4.—100 cm³ + 25 cm³ de Fe(OH)₃ + acetato sódico (sólido). 20 cm³ del filtrado gastaron 5,32 cm³ de MnO₄K. *Contrôle*, 5,55 cm³. Media, 5,44 cm³. Cantidad de azúcar, 0,156 por 100.

Con los líquidos 3 y 4 (que contenían adrenalina), fueron separados del hígado 1,45 gramos de azúcar, equivalentes a 1,35 gramos de glucógeno.

Determinación del glucógeno del lóbulo del hígado.—Peso del lóbulo, 28 gramos. Se analizaron 25,5 gramos. Se diluyeron hasta 300 cm³, de los que se analizaron 20 cm³, que gastaron 4,82 cm³ de MnO₄K. *Contrôle*, 5,03 cm³. Media, 4,92 cm³. Cantidad de glucógeno, 1,28 por 100.

Determinación del glucógeno del hígado.—Peso del hígado, 213 gramos. Se analizaron 188 gramos. Se diluyó hasta 500 cm³, 125 centímetros cúbicos de esta solución se volvieron a diluir de nuevo hasta 500 cm³. 20 cm³ de esta última dilución gastaron 3,60 centímetros cúbicos de MnO₄K. *Contrôle*, 3,65 cm³. Cantidad de glucógeno, 0,845 por 100.

CONCLUSIONES

1.^a La circulación artificial de una solución de peptona, a través del hígado superviviente del perro, ocasiona una disminución del glucógeno del hígado, a diferencia de lo que ocurre en el conejo, sobre cuyo glucógeno hepático no ejerce acción apreciable una circulación artificial de peptona.

Este resultado en el perro debe relacionarse con los siguientes hechos fijados por otros autores: *a*) Que en el perro la ingestión de peptona ocasiona un aumento de la excreción biliar y una disminución del límite de asimilación de los hidratos de carbono. *b*) Que en la rata esa ingestión hace que prácticamente quede el hígado privado de glucógeno; y *c*) Que la circulación artificial de peptona impide la formación de glucógeno en el hígado superviviente de la tortuga.

2.^a La circulación artificial de adrenalina no ejerce acción apreciable en la desintegración del glucógeno del hígado superviviente del perro. Y lo mismo ocurre en el hígado superviviente del conejo.

El experimento en el hígado del perro habla, pues, también en favor de que la desaparición del glucógeno del hígado, que se presenta tras de la inyección de adrenalina, es un fenómeno vital que se verifica en el organismo entero, pero que hasta ahora no se ha podido producir en el hígado superviviente de los mamíferos.

Número del experimento.	Disposición del experimento.	Líquido circulante.	Dura- ción de la circula- ción. — Minutos.	CONTENIDO EN AZÚCAR DE LÍQUIDO CIRCULANTE	
				Antes de la circulación. — Por 100.	Después la circula- ción. — Por 100.
1	Circulación artificial del hígado con solución Tyrode; después separación de un lóbulo del hígado y circulación del hígado restante con solución Tyrode + 3 por 100 de peptona.	Solución Tyrode (exenta de azúcar). Solución Tyrode (exenta de azúcar) + 3 por 100 de peptona.	85	0	0,256
2	Como en el experimento 1.º	Solución Tyrode (exenta de azúcar). Solución Tyrode (exenta de azúcar) + 3 por 100 de peptona.	20 60	0 0	0,077 Indicios
3	Como en el experimento 1.º	Solución Tyrode + 0,099 por 100 de glucosa. Solución Tyrode + 0,099 por 100 de glucosa. Solución Tyrode + 0,112 por 100 de glucosa + 3 por 100 de peptona. Solución Tyrode + 0,112 por 100 de glucosa + 3 por 100 de peptona.	13 16 30 17	0,099 0,099 0,112 0,112	0,496 0,340 0,526 0,404
4	Circulación artificial con solución Tyrode azucarada; después separación de un lóbulo del hígado y circulación del resto de éste con solución Tyrode azucarada + adrenalina (15 cm. ³ de Hemostasina S. S. al 1 por 1000 en 1970 cm. ³ de Tyrode).	Solución Tyrode + 0,0875 por 100 de glucosa. Solución Tyrode + 0,0875 por 100 de glucosa. Solución Tyrode + 0,0875 por 100 de glucosa + adrenalina. Solución Tyrode + 0,0875 por 100 de glucosa + adrenalina.	18 7 18 15	0,0875 0,0875 0,0875 0,0875	0,459 0,215 0,265 0,157

Aumento del contenido en azúcar del líquido después de circular. — Por 100.	CANTIDAD ABSOLUTA DEL		CANTIDAD DE GLUCÓGENO DEL		DISMINUCIÓN DEL GLUCÓGENO CALCULADA POR	
	Azúcar separado del hígado. — Gramos.	Glucógeno sepa- rado del hígado. — Gramos.	Lóbulo en por 100 del peso del hígado.	Hígado en por 100 del peso del hígado.	100 gramos de hígado. — Gramos.	100 gramos de glucóge- no del hí- gado. — Gramos.
0,256	6,14	5,70	15,90	11,80	4,10	25,8
0,077	0,81	0,75	0,092	0,023	0,069	68,51
—	—	—				
0,397	3,47	3,80	4,72	3,18	1,54	32,75
0,241	0,63					
0,414	4,14	5,46				
0,292	1,75					
0,371	2,62	3,58	1,28	0,85	0,43	25,09
0,127	1,24					
0,177	1,12	1,35				
0,069	0,33					