

ANNALS DE MEDICINA, LXVI, 1007-1013, 1980

**EFFECTE DE L'INSULINA SOBRE L'UTILITZACIÓ  
DE LIPOPROTEINES DE MOLT BAIXA DENSITAT (VLDL)  
PER TEIXITS EXTRA-HEPÀTICS A LA RATA «IN VIVO»**

J. M. ARGILÉS, E. HERRERA

INTRODUCCIÓ GENERAL AL METABOLISME DE LES VLDL. — Els lípids són transportats per la sang associats a proteïnes en forma de lipoproteïnes. Aquestes partícules es separen tradicionalment en diferents famílies caracteritzables per mètodes físics, químics i immunoquímics. Als darrers anys s'ha pogut demostrar que totes les lipoproteïnes del plasma estan relacionades metabòlicament. Així, per exemple, tant en la rata<sup>1,2</sup> com en humans<sup>3,4</sup> s'ha observat que l'apoproteïna C, principal component proteic de les lipoproteïnes de molt baixa densitat (VLDL), representa un grup comú d'apoproteïnes que poden transferir-se d'unes lipoproteïnes a unes altres per dues vies diferents: *a*) per un fenomen d'intercanvi inespecífic<sup>1,2</sup> o *b*) per una transferència a les lipoproteïnes d'elevada densitat (HDL) durant la degradació específica de les lipoproteïnes riques en triglicèrids.<sup>9</sup> De forma contrària, a la síntesi de les VLDL hi ha una transferència d'apo C a partir de les HDL. Tanmateix, es coneix que l'apoproteïna B de les VLDL és el principal precursor plasmàtic de l'apoproteïna majoritària de les lipoproteïnes de baixa densitat (LDL).

Així doncs, tant en la síntesi com en el catabolisme de les VLDL es veuen implicades la major part de les lipoproteïnes del plasma. Aquestes VLDL constitueixen els principals transportadors de triglicèrids procedents de síntesi endògena. La formació de VLDL és un procés majoritàriament hepàtic, que augmenta en casos d'obesitat, de dietes hipercalòriques,<sup>5</sup> d'embaràs<sup>6,7</sup> i d'ingestió d'alcohol.<sup>8</sup> El seu catabolisme es realitza als teixits extrahepàtics amb la participació de diferents enzims, com la lecitín-colesterol-acil-transferasa (LCAT) i la lipoproteïna-lipasa (LPL). Per l'acció d'aquest enzim, les VLDL experimenten una pèrdua successiva de triglicèrids (fig. 1) disminuint de tamany. Al mateix temps hi ha un enriquiment proporcional d'apo B, originant-se unes lipoproteïnes de major densitat o lipoproteïnes de densitat intermèdia («IDL-remnants») (fig. 1). D'aquesta forma, el teixit perifèric en qüestió pot captar els àcids grassos lliures (FFA) procedents dels trigli-

cèrids hidrolitzats, ja sigui per la seva reesterificació, acumulant així greixos (teixit adipós), ja sigui per la seva beta-oxidació, obtenint així energia per les seves cèl·lules (múscul esquelètic, múscul cardíac, pulmó, etc.). El destí principal de les «IDL-remnants» de les VLDL és, en l'home, la seva conversió posterior a LDL, lipoproteïnes majoritàries en els humans, per successiva pèrdua de triglicèrids i apo C (fig. 1) i enriquiment en apo B,<sup>9</sup> mentre que en la rata les IDL són majoritàriament catabolitzades en el fetge,<sup>10</sup> el que explica els baixos nivells de LDL en aquesta espècie.

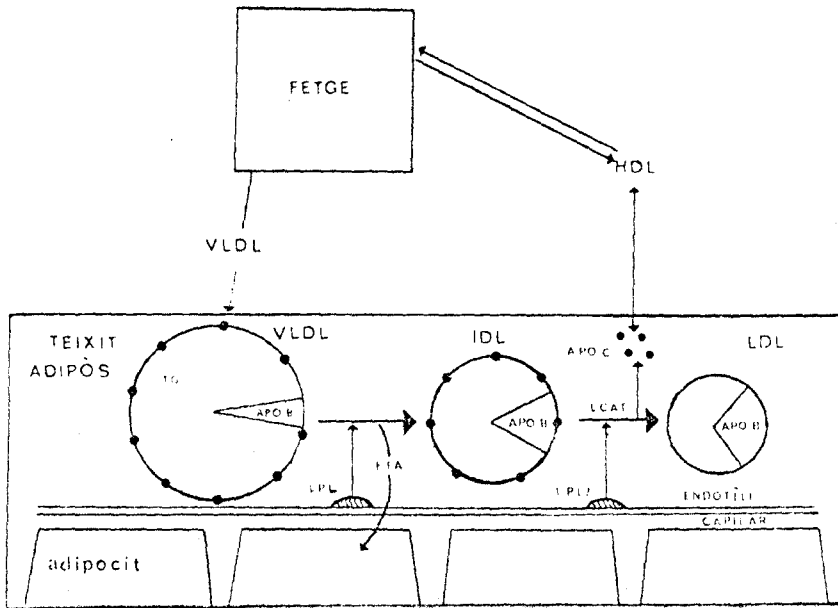


FIG. 1

Cal destacar, entre els elements més importants d'aquest esquema degradatiu de les VLDL, els components peptídics de les HDL, especialment l'apo A-I, activador de la LCAT<sup>11</sup> i l'apo C-II, potent activador de la LPL. Recents experiments d'ISHIKAWA i FIDGE,<sup>12</sup> en els quals aconseguïen eliminar aquestes apoproteïnes de les HDL, mitjançant el tractament amb Tritó WR 1339, portant a la conclusió que perquè es produeixi el catabolisme extrahepàtic de les VLDL, és quasi imprescindible la presència d'HDL intactes.

Malgrat que, com hem vist, el procés degradatiu dual de les VLDL està ben establert, la seva regulació hormonal i la natura de les lipoproteïnes formades per interconversió, són poc coneguts.

Indubtablement, tanmateix, aquests són factors clau per comprendre el paper fisiològic i/o patològic dels canvis en els nivells de les distintes lipoproteïnes circulants.

**EFFECTES DE L'INSULINA.** — L'insulina, hormona antilipolítica i lipogènica, té algun paper en la regulació del metabolisme de les lipoproteïnes i, conseqüentment, de llurs nivells en el plasma.

CHAIT i col.<sup>13</sup> observaren en incubacions *in vitro* de fibroblastos de pell humana amb VLDL marcades amb I<sup>125</sup> que l'insulina potència la degradació de les mateixes. Sembla que l'insulina actuaria induint canvis en l'unió de les lipoproteïnes amb els receptors de cèl·lules perifèriques tals com les cèl·lules de la pell o les del múscul arterial llis. De tal manera l'insulina podria facilitar la catabolització extrahepàtica de les VLDL de dues formes: *a*) activant la LPL i facilitant així la formació dels productes de l'hidròlisi de llurs triglicèrids per a poder ser captats, o *b*) facilitant la captació de VLDL senceres per fagocitosi per cèl·lules extrahepàtiques.

Un altre tipus d'evidència de l'influència de l'insulina sobre el catabolisme de les VLDL, el tenim en el cas dels diabètics insulínodéficients, els quals presenten grans acumulacions plasmàtiques de VLDL.<sup>14,15</sup>

BORENSZTAJN i col.<sup>16</sup> observaren que a l'injectar intraperitonealment insulina a rates dejunades augmentava considerablement l'activitat LP-lipàsica del teixit adipós.

FRIEDMAN i col.<sup>17</sup> estudiaren l'efecte de l'insulina i els glucocorticoides sobre l'activitat LP-lipàsica de cultius de cèl·lules mesenquimàtiques de cor de rata, concluint que els glucocorticoides controlaven la LPL del cor però que era precisa la presència de l'insulina per obtenir un efecte òptim.

**PLANTEJAMENT EXPERIMENTAL.** — En el present treball ens hem proposat determinar el paper de la insulina en la regulació *in vivo* de la degradació de les lipoproteïnes de molt baixa densitat (VLDL) en la rata hepatectomitzada.

El catabolisme de les VLDL ha estat ja estudiat al nostre laboratori.<sup>18</sup> En aquests estudis es va veure que, després de l'administració intravenosa de VLDL-<sup>14</sup>C, el fetge era el teixit que acumulava majoritàriament radioactivitat (quasi el 80%). És per això que mereix especial interès estudiar la metabolització d'aquestes lipoproteïnes a la rata hepatectomitzada per a determinar la participació dels restants teixits a la metabolització d'aquestes lipoproteïnes. Això ens permetrà d'estudiar, al mateix temps, el destí perifèric de les IDL o lipoproteïnes de densitat intermèdia resultants de la degradació de les VLDL, al no poder ésser metabolitzades pel fetge. Tanmateix, era particularment interessant determinar el possible efecte regulador de l'insulina sobre la degradació de les VLDL-<sup>14</sup>C, el qual no ha estat estudiat directament *in vivo*.

METODOLOGIA. — a) *Animals*: Es varen utilitzar rates femella de raça Wistar, de pesos compresos entre 150 i 180 g.

d) *Sèries experimentals*: S'efectuaren quatre sèries d'experiments amb: — Rates amb hepatectomia simulada, tractades i no tractades amb insulina.

— Rates hepatectomitzades tractades i no tractades amb insulina.

c) *Hepatectomia*: Els animals foren anestesiats amb nembutal (40 mg/Kg.). Es va utilitzar el mètode d'hepatectomia «funcional» descrit per RUSSELL,<sup>19</sup> el qual consistí en tallar la circulació sanguínia dels vasos que alimenten al fetge: tronc celiac i vena porta. També s'aplicà al fetge aïllat *in situ* la tècnica de Higgins i Anderson,<sup>20</sup> que consisteix en lligar dos lòbuls del fetge (el mig i el lateral esquerra). D'aquesta forma s'aconsegueix una hepatectomia «parcial» com a mecanisme de seguretat en la evisceració. S'aïllaren també els dos ronyons de la circulació, aconseguint així una nefrectomia.

Els animals amb operació simulada es mantenen amb l'incisió abdominal i peritoneal, el mateix temps que durà l'operació dels de l'altre grup, manejant el seu fetge i ronyons de forma semblant als eviscerats, però sense efectuar cap lligadura. L'insulina s'injectà per la vena cava inferior una vegada realitzada la darrera lligadura, en una dosi de 1 U/Kg. Passats 5 min., s'injectaren les VLDL-<sup>14</sup>C per la vena femoral, la qual havia estat canulada amb anterioritat a la operació pròpiament dita.

Les VLDL-<sup>14</sup>C havien estat purificades per ultracentrifugació i posterior diàlisi, del plasma de rates a les que prèviament s'havia injectat intravenosament àcid palmític-1-<sup>14</sup>C (Amersham), el qual s'incorpora a les molècules de VLDL en forma d'àcids grassos esterificats.<sup>18, 23</sup>

Els animals varen ésser sacrificats a diferents temps després de l'administració de les lipoproteïnes marcades,<sup>5, 15, 30</sup> extreient-se la seva sang per incisió practicada a la vena cava inferior i recollint-se en tubs amb EDTA (1 mg/ml.). El plasma fou separat per centrifugació a 3000 rpm durant 30 min.

A continuació es va prendre una alíquota per l'avaluació de la radioactivitat total i associada a lípids, previ fraccionament dels mateixos<sup>21</sup> i una altra per realitzar una ultracentrifugació seqüencial del plasma a diferents densitats<sup>22</sup> en un rotor 40.3 d'una ultracentrífuga Beckman L5-75, obtenint-se les següents fraccions: VLDL ( $d < 1.006$ ), IDL ( $1.006 < d < 1.019$ ), «BOTTOM» ( $d > 1.019$ ). La fracció «BOTTOM» contenia LDL, HDL i àcids grassos lliures lligats a albúmina. Després del seu fraccionament es va comptar la radioactivitat dels lípids associats a VLDL, IDL i «BOTTOM».

RESULTATS I DISCUSSIÓ. — Els animals amb hepatectomia simulada tractats amb insulina presentaren, tant als 5 com als 15 min. després de l'administració de VLDL-<sup>14</sup>C, nivells de radioactivitat en plasma associada a lí-

pidis de VLDL i «BOTTOM» per sota dels valors dels basals no tractats amb insulina (fig. 2). D'altra banda, la radioactivitat associada a lípids de IDL no canvià als 5 min. i experimentà un fort augment als 15 min. en el grup tractat amb insulina.

Els animals hepatectomitzats tractats amb insulina presenten, de forma anàloga als no operats, nivells baixos de radioactivitat associada a lípids del plasma, VLDL i «BOTTOM» als 15 min. del traçador. En aquest mateix

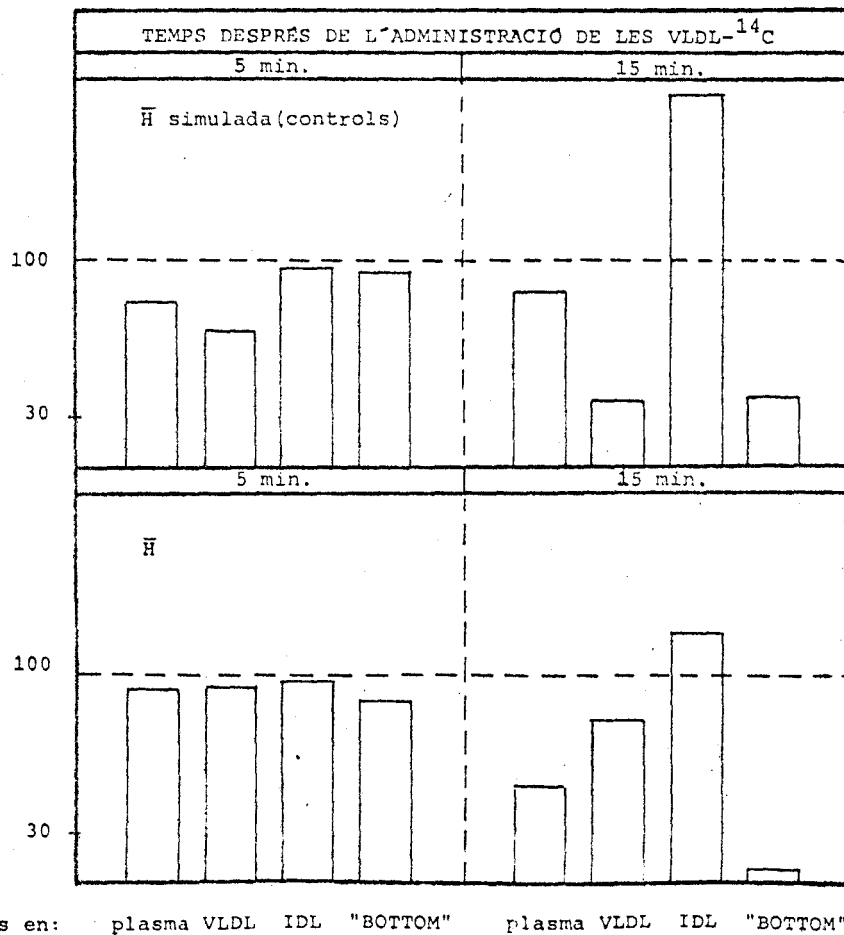


FIG. 2. — Efecte de l'insulina sobre la radioactivitat de lipoproteïnes plasmàtiques, després de l'administració de VLDL-<sup>14</sup>C a la rata. Les dades s'expressen en % de la radioactivitat amb relació amb els basals (no tractats amb insulina).

temps la radioactivitat associada a lípids d'IDL és sensiblement major que en els basals com passava també en el cas dels animals amb hepatectomia simulada (fig. 2). Aquests canvis són menys evidents als 5 min. del traçador on les variacions són també inferiors a les observades a les rates amb hepatectomia simulada.

Aquests resultats s'han de discutir en base a que el mètode d'hepatectomia utilitzat és vàlid per l'estudi del metabolisme extrahepàtic de les lipoproteïnes marcades. Realment, aquest mateix mètode ha estat prèviament utilitzat al nostre laboratori per a determinar l'utilització extrahepàtica d'altres substractes com el glicerol o el palmitat.<sup>18</sup>

En el present treball hem observat que l'insulina provoca un augment en la degradació de les lipoproteïnes de molt baixa densitat (VLDL). Aquest efecte s'observa tant a les rates hepatectomitzades com a les controls, per lo que es pot concloure que és el resultat d'un efecte extrahepàtic de l'hormona. Aquest efecte es manifesta per la pèrdua de radioactivitat associada a lípids del grup de lipoproteïnes marcades injectades. La pèrdua de lípids-<sup>14</sup>C de les VLDL va associada a un augment de radioactivitat en els lípids d'IDL, lo qual ens permet suggerir que l'insulina estimula la transformació de VLDL en IDL (fig. 3). Per les dades de la literatura, era lògic pensar que l'insulina estimulé la metabolització de les VLDL, ja que activa a la LPL,<sup>13, 16</sup> permetent així l'alliberament de FFA per a ésser captats pels teixits extrahepàtics. En el present estudi hem vist que l'insulina no solament activa la desaparició dels lípids de VLDL, sino que estimula la formació de lípids associats a partir d'aquelles. Això suposa que l'hormona activa ambdós pasos (fig. 3): l'hidròlisi de glicèrids de les VLDL, permetent la formació d'IDL i la captació dels productes d'aquesta hidròlisi pels teixits. El fet de que hi hagi un acúmul temporal de lípids IDL radioactius després de l'administració d'insulina a les rates injectades amb VLDL-<sup>14</sup>C permet suggerir que el primer procés és parcial (sols s'hidrolitza una part dels àcids grassos radioactius esterificats de les VLDL), i més ràpid que el segon.

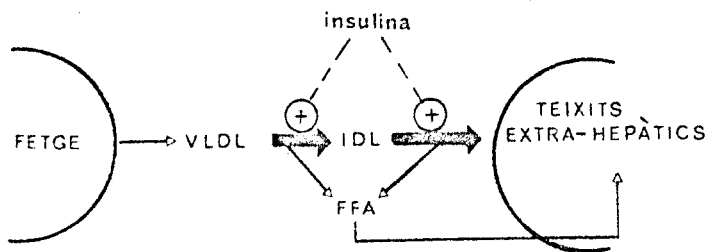


FIG. 3

## BIBLIOGRAFIA

1. BILREIMER, D. W., EISENBERG, S., LEVY, R. I.: *Biochim. Biophys. Acta*, 260, 212, 1972.
2. HAVEL, R. J., KANE, J. P., KASHYAP, M. L.: *J. Clin. Invest.*, 52, 32, 1973.
3. FIDGE, N. H., POULIS, P.: *Clin. Chim. Acta*, 52, 15, 1974.
4. EISENBERG, S., RACHMILEWITZ, D.: *J. Lipid Res.*, 16, 341, 1975.
5. SCHONFELD, G., PFEGER, B.: *Am. J. Physiol.*, 220, 1.178, 1971.
6. ARGILÉS, J. M., HERRERA, E.: XVII Congreso de la SECF, Badajoz, 1978.
7. LOBERA, M., MONTES, A., ARGILÉS, J. M., HERRERA, E.: Simposio sobre aspectos metabólicos y endocrinos del desarrollo, Madrid, 1979.
8. KUDZMA, D. J., SCHONFELD, G.: *J. Lab. clin. Med.*, 77, 384, 1971.
9. FAERGEMAN, O., SATA, T., KANE, J. P., HAVEL, J. R.: *J. Clin. Invest.*, 56, 1.396, 1975.
10. STEIN, O., RACHMILEWITZ, D., SANGER, L., EISENBERG, S., STEIN, Y.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 360, 205, 1974.
11. EISENBERG, S., LEVY, R. I.: *Adv. Lipid Res.*, 13, 1, 1975.
12. ISHIKAWA, T., FIDGE, N.: *J. Lipid Res.*, 20, 245, 1979.
13. CHAIT, A., BIERMAN, E. L., ALBERS, J. J.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 529, 292, 1978.
14. BIERMAN, E. L., PORTE, D., BAGDALE, J. D.: *Adipose Tissue: Regulation & Metabolic Functions* (Jeanrenaud, B. & Hepp, D. ed.), 209. Academic Press, New York, 1970.
15. CHANCE, G. W., ALBUTT, E. C., EDKINS, S. M.: *Lancet* 1, 1.126, 1969.
16. BORENSZTAIN, D., SAMOLS, R., RUBENSTEIN, A. H.: *Am. J. Physiol.*, 223, 6, 1972.
17. FRIEDMAN, G., STEIN, O., STEIN, Y.: *Biochim. Biophys. Acta*, 531, 222, 1978.
18. CARMANU, S.: Tesis Doctoral. Barcelona, 1978.
19. RUSSELL, J. A.: *Ann. J. Physiol.*, 136, 95, 1945.
20. HIGGINS, G. M., ANDERSON, R. M.: *Arch. Pathol.*, 12, 186, 1931.
21. FOLCH, J., LEEDS, M., SLOANE-STANLEY, J. H.: *J. Biol. Chem.*, 266, 495, 191.
22. LINDGREN, F. T., ADAMSON, G. L., JENSON, L. C.: *Lipids*, 10, 12, 1975.
23. LASUNCIÓN, M. A.: Tesis Doctoral. Barcelona, 1979.

*Càtedra de Fisiologia General. Facultat de Biologia.  
Universitat de Barcelona.*