

# Modulación del metabolismo del glicerol en tejido adiposo

E. HERRERA y M. C. DOMINGUEZ

---

## RESUMEN

En el presente estudio hemos determinado la influencia de variaciones de glicerol y glucosa sobre la metabolización del propio glicerol por el tejido adiposo de rata incubado *in vitro*. Con esta finalidad hemos incubado trozos de epidídimo graso de ratas alimentadas en medio de Krebs-Ringer-bicarbonato conteniendo albúmina bovina purificada y glicerol-1-C<sup>14</sup>. A distintos tiempos de incubación se han valorado las variaciones en la actividad específica del trazador, para llegar a expresar los datos en unidades de velocidad, en función del glicerol no radiactivo que sale al medio de incubación vía lipólisis y del que es remetabolizado por el propio tejido. Un aumento en la concentración de glicerol en el medio de incubación produce un aumento de las velocidades de síntesis de CO<sub>2</sub> y glicerol de glicéridos a partir del mismo sustrato. La glucosa produce un aumento de las velocidades de síntesis de CO<sub>2</sub> y ácidos grasos a partir de glicerol, pero inhibe su conversión a glicerol de glicéridos. Los resultados se estudian en función de los efectos competitivos de la glucosa y el glicerol para la síntesis de  $\alpha$ -glicerofosfato y la necesidad de la glucosa para la lipogénesis a partir de glicerol en tejido adiposo, como fuente energética para la síntesis de ATP y de coenzimas reducidos para la síntesis de ácidos grasos.

---

## INTRODUCCION

Desde que en 1957 Wieland y Suyter<sup>1</sup> indicaron la ausencia de gliceroquinasa (EC 2,7,1,30) en tejido adiposo, se venía asumiendo que este tejido

estaba incapacitado para metabolizar el glicerol. De hecho, en los trabajos de esos años, en los que se utilizaba como trazador glicerol-C<sup>14</sup> de baja actividad específica, se demuestra la dificultad de lograr una captación apreciable de este metabolito por el tejido adiposo incubado *in vitro*<sup>2</sup>. Diez años más tarde, Robinson y Newsholme utilizan un método radioquímico muy sensible<sup>3</sup> y demuestran que el enzima está presente en este tejido, aunque concluyen que su actividad es baja y no justificaría una considerable capacidad para metabolizar el glicerol. En 1970 demostramos que trozos de tejido adiposo de rata incubados *in vitro* en presencia de glicerol-C<sup>14</sup> de alta actividad específica llegan a utilizar hasta un 20 % de la radiactividad inicial para la formación de CO<sub>2</sub> y lípidos (preferentemente, glicerol de glicéridos)<sup>4</sup>. Consideramos que este porcentaje de captación de glicerol sería aún mayor si corregíamos la actividad específica del trazador por su continua dilución, producida por el glicerol no radiactivo que continuamente sale al medio de incubación vía lipólisis. Un análisis matemático de nuestro modelo experimental nos permitió llegar a calcular las verdaderas velocidades de metabolización del glicerol por el tejido<sup>5</sup>, demostrando luego que éstas son afectadas por numerosos factores, como la concentración de albúmina en el medio<sup>6</sup>, el estado alimenticio de los animales de donde procedían los tejidos<sup>5</sup>, la situación tiroidea de aquéllos<sup>7</sup>, la presencia de hormonas o fármacos de acción lipolítica o antilipolítica<sup>8-10</sup>, etc.

En el presente trabajo nos proponemos revisar nuestros resultados sobre la cinética del glicerol en tejido adiposo y algunos de los factores que la afectan, con especial atención de la glucosa, ya que este metabolito es el principal carburante metabólico en dicho tejido, y lógicamente ha de influir muy intensamente en la capacidad del mismo para utilizar glicerol.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratas macho de la raza Wistar, de un peso entre 171-195 g, procedentes de nuestro criadero y alimentadas *ad libitum* con la dieta normal del mismo. Los animales se sacrificaron mediante fractura cervical y se disecaron los epidídimos grasos. Cuatro trozos de los dos epidídimos grasos de cada animal se colocaron en 0,5 ml de Krebs-Ringer-bicarbonato<sup>11</sup>, pH 7,4, suplementado con albúmina bovina (20 mg/ml), purificada por el método de Chen<sup>12</sup>, y cantidades distintas de glucosa o glicerol. Al tiempo 0, se añadieron a cada vial 0,5 ml de Krebs-Ringer-bicarbonato conteniendo 0,5 µCi de glicerol-1-<sup>14</sup>C (10 µM), después de lo cual los viales se taparon y gasearon con O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (95/5 %), incubándose a 37° C y agitación de 100 ciclos/min, en un baño agitador Dubnoff. Las incubaciones se detuvieron mediante la adición de HClO<sub>4</sub> y el CO<sub>2</sub> de cada muestra se recogió en hidróxido de hiamina (10X) mediante agitación suave a la temperatura ambiente durante 60 min<sup>4,5</sup>. Los medios se procesaron<sup>5</sup> y en ellos se determinó la concentración de glicerol por método enzimático<sup>13</sup>. Los lípidos se extrajeron de los tejidos<sup>14</sup> al final de la incubación y fueron purificados y fraccionados de la forma ya descrita<sup>5,6</sup>. Los datos se procesaron<sup>6</sup> usando un calculador electrónico (Compucorp-445).

## RESULTADOS Y DISCUSION

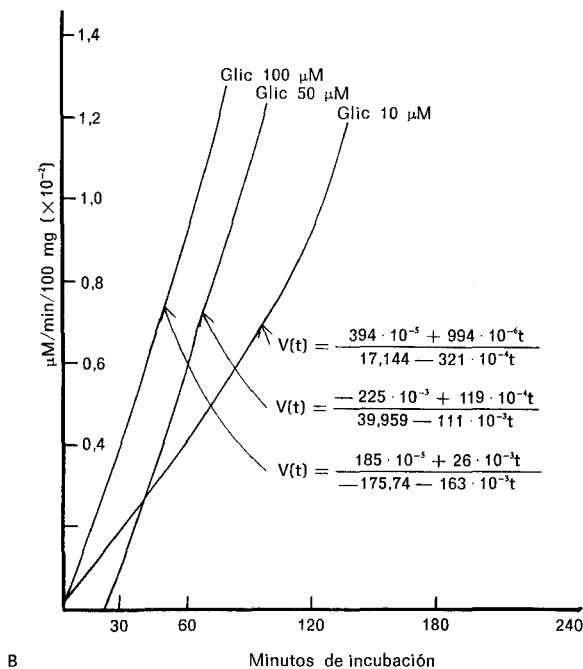
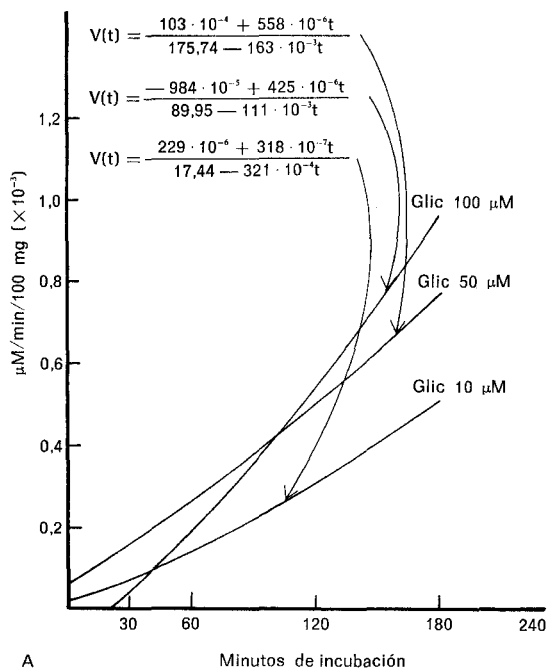
### Utilización de glicerol en función de la concentración del sustrato

Incubamos *in vitro* trozos de epidídimo graso de ratas alimentadas, en presencia de glicerol-1-<sup>14</sup>C y distintas concentraciones de glicerol frío, durante 30, 60, 120 ó 180 min, al cabo de lo cual se determinó la velocidad de utilización del glicerol para la formación de CO<sub>2</sub> y glicerol de glicéridos, de la forma ya descrita<sup>5, 6</sup>. Como puede observarse en la figura 16-1, el aumento en la concentración de glicerol en el medio de incubación produce un aumento en las velocidades de su degradación a CO<sub>2</sub> (fig. 16-1A) y su transformación en glicerol de glicéridos (fig. 16-1B). Estos efectos son proporcionales a la concentración de glicerol en el medio, siendo las correspondientes Km para ambos parámetros 14 μM en el caso de la síntesis de glicerol de glicéridos y 13 μM en el de la formación de CO<sub>2</sub>. Estos valores son muy inferiores a la concentración de glicerol en sangre de la rata *in vivo*<sup>15</sup> y permiten sugerir que variaciones en los niveles circulantes de glicerol no influyen de forma sensible en la capacidad del tejido adiposo para su metabolización.

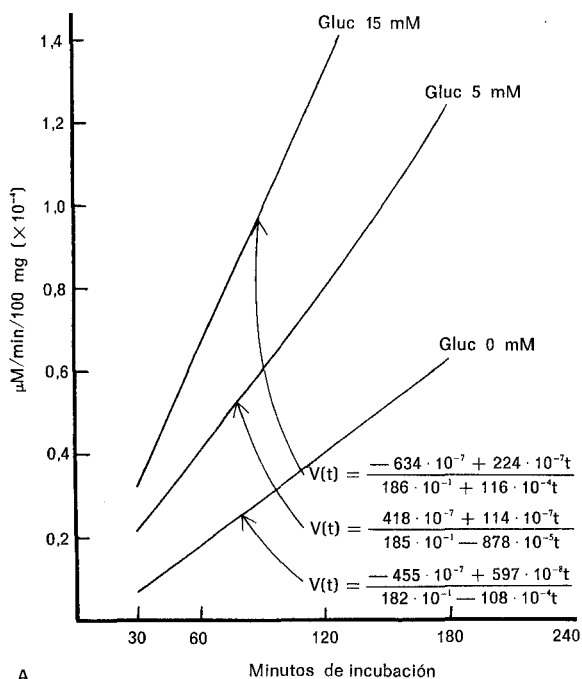
### Efecto de la glucosa sobre la metabolización del glicerol

Nos interesó determinar los efectos de la glucosa sobre estos parámetros, ya que este metabolito, principal carburante energético para el tejido adiposo, podría afectar la metabolización del glicerol por el tejido de dos formas sustancialmente opuestas: a) produciendo α-glicerofosfato derivado de la glucólisis, y de esta forma, compitiendo con el glicerol para la esterificación de ácidos grasos; b) aportando ATP para la fosforilación del glicerol. Por el primer procedimiento, la glucosa originaría una disminución de la utilización del glicerol por el tejido, mientras que por el segundo un aumento.

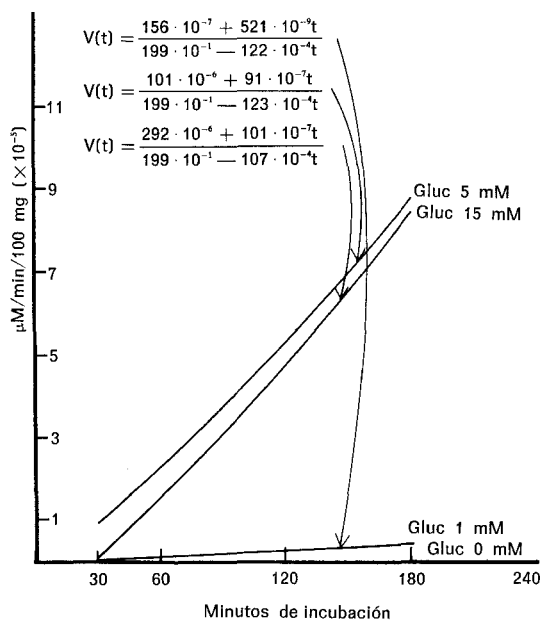
Como puede observarse en la figura 16-2, la presencia de glucosa en el medio de incubación produce un aumento de la producción de CO<sub>2</sub> y síntesis de ácidos grasos a partir de glicerol. El efecto de la glucosa aumentando la metabolización del glicerol hasta CO<sub>2</sub> es función de la concentración de aquélla en el medio (fig. 16-2A), y el mecanismo podría explicarse por un aporte de ATP al tejido, que permite la fosforilación del glicerol. Esta interpretación concuerda con nuestros recientes hallazgos de que el efecto de la glucosa sobre la formación de CO<sub>2</sub> a partir de glicerol en tejido adiposo disminuye en presencia de inhibidores metabólicos tales como la oligomicina y la 2-D-desoxiglucosa<sup>16</sup>. La glucosa aumenta también la síntesis de ácidos grasos a partir de glicerol (fig. 16-2B), sin embargo, este efecto no es proporcional a la concentración de glucosa. Así, en ausencia de glucosa o en presencia de concentraciones de 1 mM de este metabolito, la lipogénesis a partir de glicerol es nula o casi inapreciable, mientras que concentraciones de 5 y 15 mM originan una intensa activación del parámetro, que es similar para ambas concentraciones. Estos resultados nos hacen sugerir que en lo que se refiere a la lipogénesis, la glu-



**Fig. 16-1.** Efecto de distintas concentraciones del sustrato (Glic) sobre las velocidades ( $v$ ) de síntesis de  $\text{CO}_2$  (A) y glicerol de glicéridos (B) a partir de glicerol por trozos de epidídimo graso de rata incubados *in vitro*. Los datos se han calculado en función de la dilución isotópica del trazador (glicerol- $1\text{-}^{14}\text{C}$ ) por el glicerol no radiactivo liberado al medio a distintos tiempos de incubación, de la forma ya descrita <sup>5, 6</sup>.

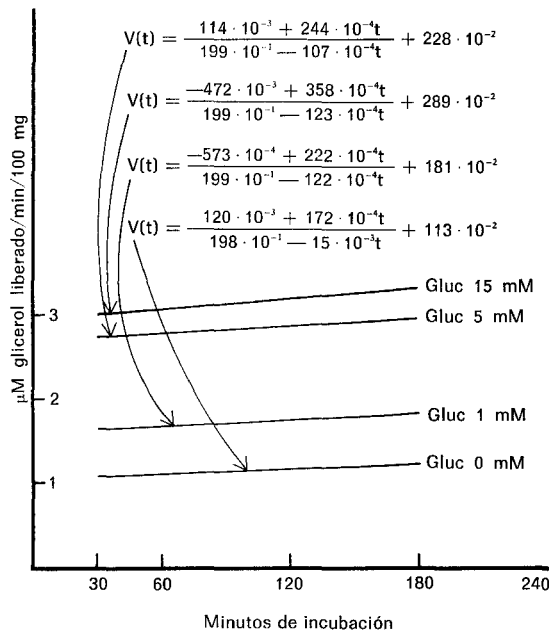
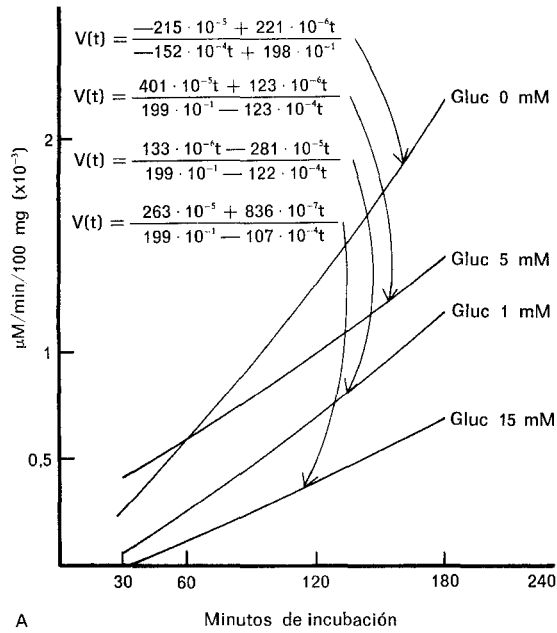


A



B

**Fig. 16-2.** Efecto de la glucosa (Gluc) sobre las velocidades ( $v$ ) de síntesis de CO<sub>2</sub> (A) y ácidos grasos (B) a partir de glicerol por trozos de epidídimo graso de rata incubados *in vitro*. Los datos se han calculado en función de la dilución isotópica del trazador (glicerol-1-<sup>14</sup>C) por el glicerol no radiactivo liberado al medio a distintos tiempos de incubación, de la forma ya descrita<sup>5, 6</sup>.



**Fig. 16-3.** Efecto de la glucosa (Gluc) sobre las velocidades (*v*) de síntesis de glicerol de glicéridos a partir de glicerol y de lipólisis por trozos de epidídimo graso de rata incubados *in vitro*. Los datos se han calculado en función de la dilución isotópica del trazador (glicerol-1-<sup>14</sup>C) por el glicerol no radiactivo liberado al medio a distintos tiempos de incubación, de la forma ya descrita<sup>5, 6</sup>.

cosa está aportando no solamente ATP para la fosforilación del glicerol, sino también permite la formación del NADPH necesario para la síntesis de ácidos grasos, a través de su descarboxilación directa por la derivación de las hexosas monofosfato.

De forma contraria al efecto de la glucosa sobre la formación de  $\text{CO}_2$  y ácidos grasos a partir de glicerol, la síntesis de glicerol de glicéridos a partir del mismo sustrato es inhibida por la glucosa (fig. 16-3A). El efecto es proporcional a la concentración de glucosa en el medio de incubación y podría ser interpretado como el resultado de la competencia entre la glucosa y el glicerol para la formación del  $\alpha$ -glicerofosfato que se utiliza en la esterificación de los ácidos grasos. De ser correcta esta interpretación, hemos de recurrir a considerar la posibilidad de la existencia de, al menos, dos *pools* de  $\alpha$ -glicerofosfato en el adipocito: uno, el que es utilizado para la formación de  $\text{CO}_2$  y ácidos grasos a partir de glicerol, en el que la glucosa no compite con el glicerol sino que, al contrario, facilita su metabolización; otro, el que es utilizado para la esterificación de los ácidos grasos, en el cual ambos metabolitos (glucosa y glicerol) compiten mutuamente.

Para lograr un panorama completo del efecto de la glucosa sobre el metabolito del glicerol en tejido adiposo, hemos de considerar también su papel en la actividad lipolítica. En la figura 16-3B se observa cómo la glucosa estimula la liberación de glicerol por el tejido adiposo incubado *in vitro*, y el efecto es proporcional a la concentración de glucosa en el medio. Este efecto lipolítico de la glucosa puede también haber sido inducido por dos mecanismos complementarios. En primer lugar, al ser la glucosa el carburante metabólico principal en el tejido adiposo, facilita la formación de ATP, el cual es activador de la lipasa de triglicéridos dependiente de hormonas<sup>17</sup>. En segundo lugar, aunque la glucosa hemos visto aquí que inhibe la formación de glicerol de glicéridos a partir de glicerol, hemos demostrado anteriormente<sup>18</sup> que la glucosa aumenta significativamente la esterificación de ácidos grasos en el tejido. Este efecto produce una disminución intracelular de ácidos grasos libres, los cuales son inhibidores de la lipólisis. En consecuencia, al producir la glucosa este efecto, está disminuyendo la concentración de inhibidores de la lipólisis, por lo que no sorprende su efecto estimulando esta vía metabólica. Nuestros resultados no permiten determinar cuál de estos mecanismos contribuye más eficazmente a los fenómenos observados, y es necesario un mayor aporte experimental para lograr una evaluación más cuantitativa de estos efectos.

## CONSIDERACIONES FINALES

Como continuación del presente estudio, hemos determinado los efectos de la insulina y la adrenalina sobre el metabolismo del glicerol en tejido adiposo, en presencia y en ausencia de glucosa. Los datos se han publicado recientemente<sup>19</sup>, y demuestran que estos factores hormonales de efectos antilipolíticos y lipolíticos también afectan la utilización del glicerol por el tejido, haciéndolo para determinados parámetros de forma directa e independiente a la glu-

cosa (p. ej., la formación de CO<sub>2</sub>), y para otros de forma indirecta, a través de sus respectivas acciones sobre el metabolismo de la glucosa (éste es el caso de la síntesis de ácidos grasos a partir de glicerol).

Por último, con los datos aquí presentados y nuestras anteriores contribuciones al tema en distintas situaciones experimentales, hemos podido observar que no existe relación directa entre la actividad lipolítica del tejido adiposo y su capacidad de utilización de glicerol, lo que nos permite sugerir que ambas vías metabólicas son independientes entre sí y las dos han de tenerse en consideración para comprender totalmente el efecto de cualquier factor sobre el metabolismo de este tejido.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se ha realizado en parte con una ayuda de investigación de Presidencia del Gobierno (Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica).

## BIBLIOGRAFIA

1. Wieland, O., y M. Suyter (1957): *Biochem. Z.*, 329:320.
2. Shapiro, B.; Chowers, I., y Rose, G. (1957): *Biochim. Biophys. Acta*, 23:115.
3. Robinson, J., y Newsholme, E. A. (1967): *Biochem. J.*, 104:2c.
4. Herrera, E., y Lamas, L. (1970): *Biochem. J.*, 120:433.
5. Herrera, E., y Ayanz, A. (1972): *J. Lipid Res.*, 13:802.
6. Herrera, E. (1973): *Rev. Esp. Fisiol.*, 29:155.
7. Montoya, E., y Herrera, E. (1974): *Hormone Res.*, 5:129.
8. Herrera, E., y Pascual, A. (1973): *Biochem. Pharmacol.*, 22:3131.
9. Herrera, E., y Domínguez, M. C. (1973): VIII Congress of the International Diabetes Federation. *Excerpta Medica*, No. 280, pág. 100.
10. Herrera, E. (1975): *Life Sciences*, 16:645.
11. Umbreit, W. W.; Burris, R. H., y Stauffer, S. F. (1954): *Manometric Techniques* (4th ed.), pág. 132, Burgess Publishing Co., Minneapolis.
12. Chen, R. F. (1967): *J. Biol. Chem.*, 242:173.
13. Garland, P. B., y Randle, P. (1962): *Nature*, 196:987.
14. Folch, J.; Lees, M., y Sloane Stanley, G. H. (1957): *J. Biol. Chem.*, 226:497.
15. Metzger, B. E.; Hare, J. W., y Freinkel, N. (1971): *J. Clin. Endocrinol.*, 33:869.
16. Domínguez, M. C., y Herrera, E. (1976): *Horm. Metab. Res.*, 8:33.
17. Jeanrenaud, B. (1971): *Diabetología*, 7:209.
18. Knopp, R. H.; Herrera, E., y Freinkel, N. (1970): *J. Clin. Invest.*, 49:1438.
19. Domínguez, M. C., y Herrera, E. (1976): *Biochem. J.*, 158:183.