

APROXIMACIÓ A L'ESTUDI DEL TRANSPORT PLACENTARI DE GLUCOSA: EFECTE DE LA INSULINA

X. TESTAR, M. A. LASUNCIÓN, R. CHIARI, E. HERRERA

ANTECEDENTS BIBLIOGRÀFICS. — La placenta, a més de constituir una veritable glàndula de secreció interna d'importància innegable per la regulació del metabolisme al llarg de l'embaràs, és el lloc de pas obligat per a tots els metabòlits, electròlits i fluids que la mare proporciona al fetus i viceversa.

Aquest òrgan posseeix receptors per a la insulina, variant amplemment aquests en quan a nombre i distribució segons el mamífer que es consideri.¹ Igualment s'han localitzat en la placenta diferents activitats degradadores de la insulina,² fet que, segons alguns autors, té una especial repercussió en l'economia energètica materna.³ Malgrat tot no s'ha arribat a poder esclarir el possible paper de la insulina com a reguladora de les funcions placentàries.

Es sabut que el nombre de receptors per a la insulina varia al llarg de l'embaràs i també s'ha vist que les placentes de les mares diabètiques gestacionals presenten un menor nombre de receptors que les normals.⁴ Per altra banda, si bé DEMERS i col.⁵ defensaren que el metabolisme del glicogen placentari era regulat eficaçment per la insulina, DIAMANT i SHAFRIR⁶ suggereixen que és la disponibilitat de glucosa, més que la insulina, la que determina la velocitat de la glicogènesi. Igualment l'activitat dels diferents enzims reguladors de la glicòlisi, glucogènesi, via de les pentoses i lipogènesi de la placenta no es modulada per la insulina, almenys a l'última fase de la gestació.⁶ També s'ha observat, a l'ovella, que la insulina no afecta, aparentment, el consum de glucosa per part de la placenta,⁷ mentre que en la placenta humana *in vitro* l'activa.⁸

Respecte la regulació del metabolisme dels aminoàcids per la placenta, apareixen novament discrepàncies: DANCIS i col.⁹ trobaren que la insulina augmentava la captació d'aminoàcids en les placentes humanes però no en les del conill perquè, en canvi, STEEL i col.¹⁰ qüestionen aquests resultats.

Si considerem el possible efecte de la insulina com a reguladora del transport placentari de metabòlits, trobem que SIMMONS i col.,¹¹ a l'ovella,

i RABAIN i PICÓN,¹² a la rata, observaren que l'administració d'insulina al fetus provocava un augment en la transferència de glucosa de la mare al fetus, si bé resta per determinar si l'efecte és directe, a nivell placentari, o si no és més que una conseqüència de l'augment del gradient de concentracions existent entre la mare y el fetus. Finalment, PAXSON i col.,¹³ amb la perfusió d'insulina a través de l'artèria uterina d'ovelles en avançat estat de gestació, observaren un increment en la captació de glucosa per part de l'unitat feto-placentària, atribuint aquest a un major pas de glucosa de la mare al fetus.

La disparitat de resultats existent en la bibliografia pot ésser atribuït a diferències interespecífiques, però també a la metodologia utilitzada.

Nosaltres hem desenvolupat una tècnica de perfusió *in vivo* de l'úter de la rata¹⁴ que permet l'estudi del transport placentari de metabòlits, així com la possible regulació d'aquest. En el present treball s'ha utilitzat aquesta tècnica per a l'estudi de la transferència de glucosa de la mare al fetus i el possible efecte de la insulina sobre aquest procés.

PLANTEJAMENT I PROTOCOL EXPERIMENTAL. — S'utilitzaren rates Wistar en el dia 20,5 de la gestació, que foren anestesiades per injecció intravenosa de pentobarbital sòdic, segons una dosi de 33 mg/Kg. de pes corporal.

Davant la disposició bicorne de l'úter de la rata (fig. 1), canulàrem l'artèria femoral esquerra, portant la cànula (PE 10) fins just l'inici de l'artèria uterina. La resta de les derivacions arterials de la ilíaca primitiva es tancaren per assegurar que el líquid de perfusió es dirigís exclusivament cap a l'artèria uterina.

Quan interessa efectuar la perfusió general de l'animal, aquesta es realitza per la vena jugular. La velocitat de perfusió fou de 1,2 ml/min. per a totes les solucions utilitzades i el temps de perfusió de 15 min.

Acabada la perfusió, es recollí sang de la mare per punció de l'aorta i, per decapitació, dels fetus d'un i altre corn uterí separadament.

Alíquotes de les mostres de sang es col·locaren en vials especials per al processament i posterior determinació de la radiactivitat.

Altres alíquotes de plasma es procesaren segons el procediment que s'indica més endavant.

RESULTATS I DISCUSSIÓ. — En una primera sèrie experimental injectàrem pel corn uterí esquerre, glucosa U-C¹⁴ (The Radiochemical Center, Amersham, a. e., 199,6 mCi/mmol). Els resultats de radiactivitat total, que s'expressen en percentatge respecte a la radiactivitat trobada en la sang materna, es presente en la figura 2 A. Observem que la sang dels fetus del corn uterí esquerre presenta un nivell de radiactivitat unes tres vegades superior al dels fetus del corn uterí dret i unes dos vegades superior al de la mare.

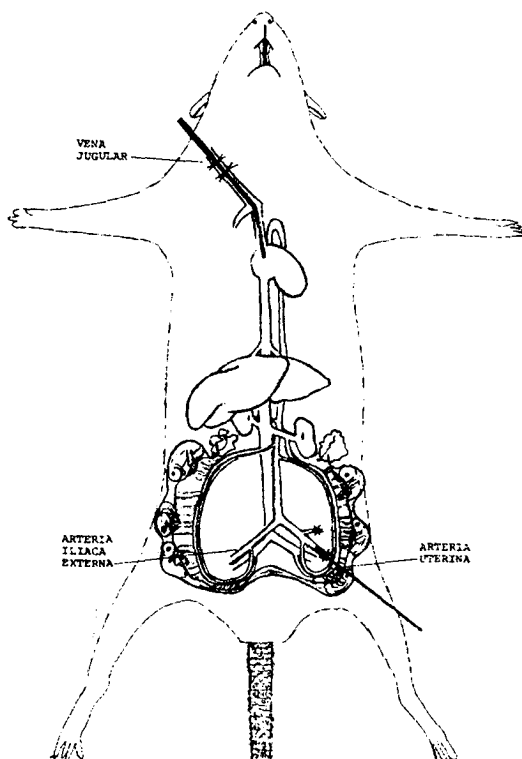


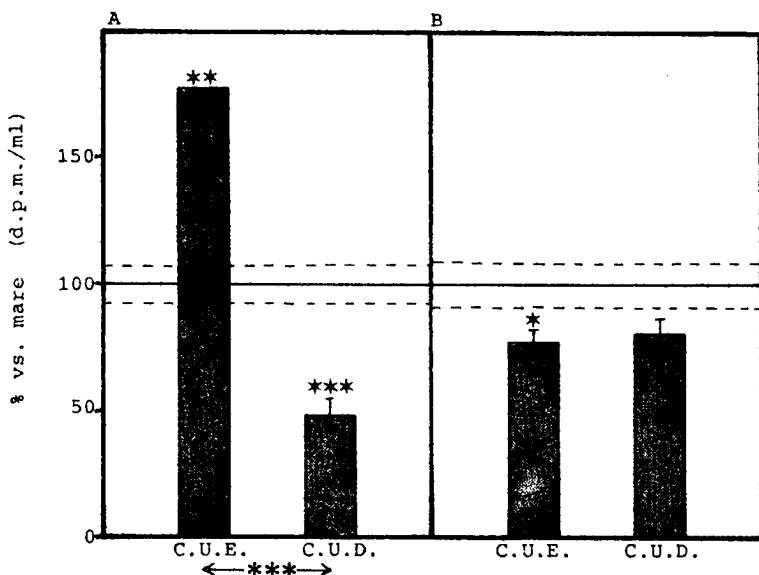
FIG. 1. — Esquema de les canulacions de la vena jugular i de l'arteria uterina en la ratna prenyada.

Coneixent que la glucosa creua la placenta per difusió facilitada,¹⁵ els resultats obtinguts demostren que el mètode utilitzat es vàlid per a l'estudi del transport placentari de metabòlits ja que a l'injectar per aquest procediment, un substrat (marcat amb isòtops radiactius) que creui directament la placenta, trobarem més radiactivitat en els fetus del corn uterí injectat, l'esquerre en aquest cas, que en els de l'altre, el dret.

Per a confirmar que els resultats obtinguts no eren atribuïbles a una alteració de la circulació sanguínia de l'úter, s'injectà igualment glucosa U-C¹⁴, però ara per la vena jugular, mentre per via uterina s'injectà solució fisiològica (ClNa al 0,9 %). Com podíem esperar, la radiactivitat trobada en la sang dels fetus d'ambdós corns uterins fou molt semblant (fig. 2 B), i, a la vegada, inferior a la de la sang materna.

Prèviament a l'estudi de la possible regulació del transport placentari de glucosa a càrrec de la insulina, calia confirmar si aquesta hormona no creuaba

Significativitat front a la mare: *= $p < 0.05$
 **= $p < 0.01$
 ***= $p < 0.001$



Significativitat entre corns uterins: ***= $p < 0.001$

FIG. 2. — Percentatge de la radiactivitat en sang de fetus respecte a sang de mare, després de la perfusió de glucosa U-C¹⁴ per el corn uterí esquerre (A) i per la vena jugular (B). C.U.E.: Corn Uterí Esquerre; C.U.D.: Corn Uterí Dret. Els valors s'expressen en mitjanes \pm ESM de 4-5 rates per grup.

eficaçment la placenta. Amb aquesta finalitat injectàrem, per via uterina, insulina-I¹²⁵. La radiactivitat en la sang dels fetus fou molt inferior a la de la mare (fig. 3), no observaren diferències entre un i altre corn uterí. A més, mitjançant una tècnica cromatogràfica adequada,¹⁶ comprovarem que menys de l'1 % de la radiactivitat trobada en el plasma fetal corresponia a insulina.

Aquests resultats estan d'acord amb els d'altres autors^{16, 17} en el sentit que la insulina de la circulació materna és incapaç d'arribar al fetus i, a la vegada, confirma la validesa de la tècnica utilitzada per aquest tipus d'estudis.

Per a determinar si la insulina exercia algun efecte a nivell placentari sobre la transferència de glucosa de la mare al fetus, s'injectaren els animals amb glucosa U-C¹⁴ a través de la vena jugular i amb diferents dosis d'insulina (0,01 i 1 U) per via uterina. Un altre sèrie d'animals injectats per via uterina amb solució fisiològica s'utilitzaren com a controls.

Segons aquest protocol experimental, com que la concentració d'insulina en la circulació del corn uterí esquerre tenia d'ésser superior que en la del corn uterí dret, si aquesta hormona exercia algun efecte directe sobre el transport de glucosa a través de la placenta, per exemple activant-lo, tindríem de trobar un major nivell de radiactivitat en els fetus del corn uterí esquerre que en els del dret.

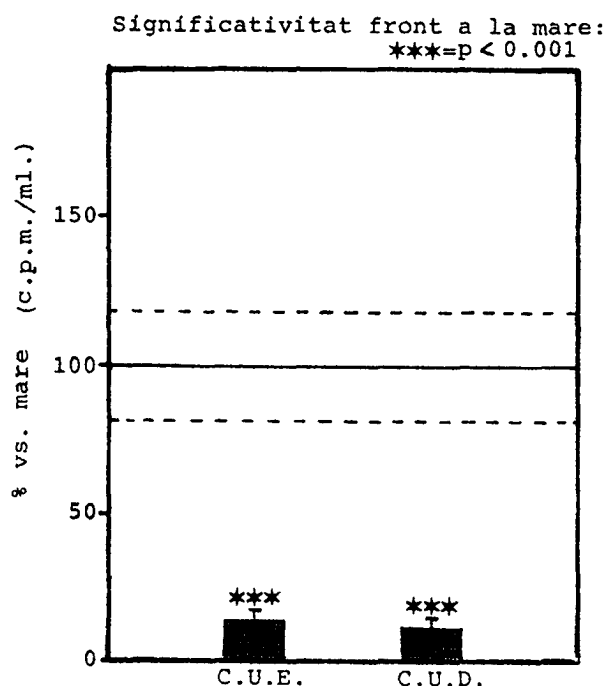


FIG. 3. — Percentatge de la radiactivitat en sang de fetus respecte a sang de mare, després de la perfusió d'insulina I^{125} pel corn uterí esquerre. C. U. E.: Corn Uterí Esquerre; C. U. D.: Corn Uterí Dret. Els valors s'expressen en mitjanes \pm ESM de 4-5 rates per grup.

En la figura 4 es presenten els valors d'insulina en el plasma, determinat mitjançant un mètode radioimmunològic.¹⁸ S'observa que la dosi de 0,01 U d'insulina no modificà apreciablement la insulinèmia materna, mentre que la dosi de 1 U la incrementà significativament (valors extrapolats). La insulinèmia fetal restà inalterada independentment del corn uterí considerat i de la dosi d'insulina administrada a la mare. Aquest resultat confirma igualment la impermeabilitat de la placenta a la insulina.

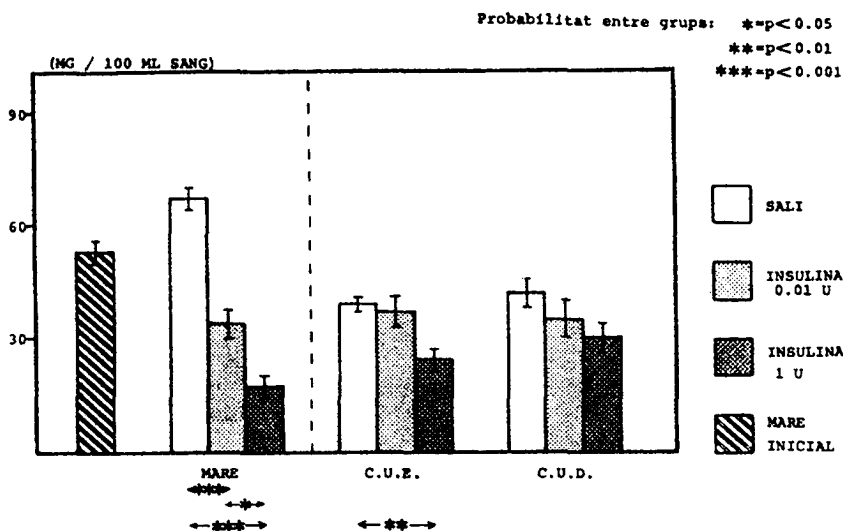


FIG. 4. — Concentració d'insulina en el plasma matern i en el fetal després de la perfusió de glucosa U-C¹⁴ per vena jugular i d'insulina pel corn uterí esquerre. C. U. E.: Corn Uterí Esquerre; C. U. D.: Corn Uterí Dret. Els valors s'expressen en mitjanes \pm ESM de 4-5 rates per grup.

La glucosa en sang es valorà pel mètode de la glucosa-oxidasa¹⁹ (fig. 5). La glucèmia materna disminuí a valors molt baixos després de la perfusió de qualsevol de les dosis d'insulina, degut probablement tant a un increment de l'utilització de glucosa per part dels teixits com a una inhibició de l'alliberament de glucosa endògena.^{20, 21}

Es coneix bé que en les últimes fases de l'embaràs, la glucèmia fetal és inferior a la materna. Observem que, igual que en la mare, la glucèmia fetal disminuí a l'injectar insulina, però aquesta disminució és menor que en ella. De fet, les glucèmies materna i fetal s'arriben a igualar després de la perfusió de 0,01 U d'insulina, i, fins i tot, la fetal supera a la materna quan s'injecta 1 U (fig. 5). Resultats similars foren trobats per GOODNER i col.²² i suggereixen que en situacions d'intensa hipoglucèmia materna, el fetus es capaç de regular la seva glucèmia, probablement activant la síntesi i alliberament de glucosa per part dels seus teixits.

Considerem, per últim, els resultats de radiactivitat en sang (fig. 6). Als 15 minuts de perfusió, la radiactivitat trobada en la sang de les mares injectades amb 1 U d'insulina fou significativament inferior a la dels seus controls, fet que concorda amb el conegut efecte activador de la insulina del consum de glucosa per part dels teixits. Paral·lelament, la radiactivitat en la sang dels fetus fou menor en els de les mares injectades amb

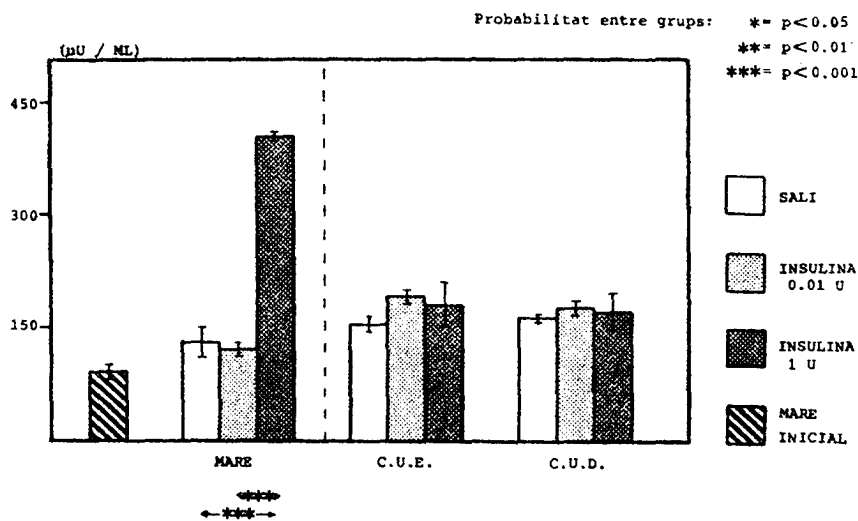


Fig. 5. — Concentració de glucosa en sang materna i fetal després de la perfusió de glucosa U-C¹⁴ per vena jugular i d'insulina pel corn uterí esquerre. C.U.E.: Corn Uterí Esquerre; C.U.D.: Corn Uterí Dret. Els valors s'expressen en mitjanes \pm ESM de 4-5 rates per grup.

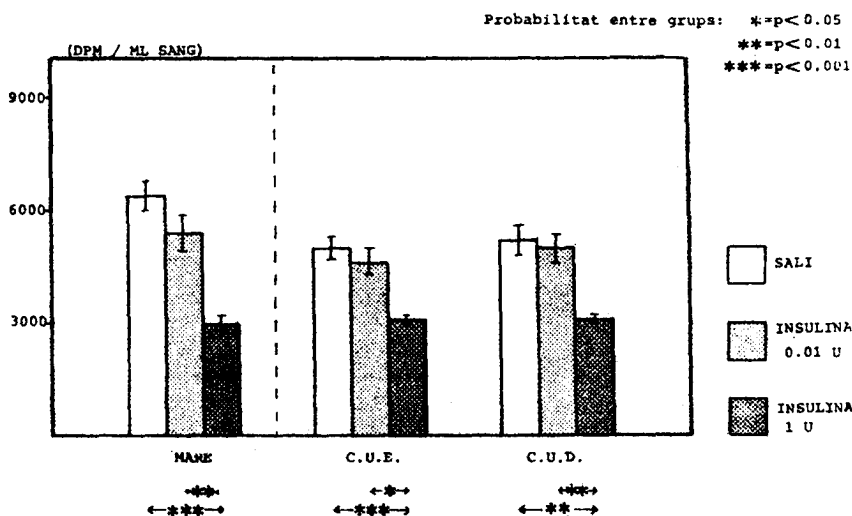


Fig. 6. — Radiactivitat en sang materna i fetal després de la perfusió de glucosa U-C¹⁴ per vena jugular i d'insulina per corn uterí esquerre. C.U.E.: Corn Uterí Esquerre; C.U.D.: Corn Uterí Dret. Els valors estan corregits considerant la radiactivitat injectada igual a 10^6 d. p. m. i s'expressen en mitjanes \pm ESM de 4-5 rates per grup.

insulina que en els de les mares control. No obstant, i de manera paral·lela al que succeïa amb la glucèmia, aquest descens en la radiactivitat després de l'administració d'insulina a la mare, fou de menor magnitud en els fetus que en les mares. L'explicació d'aquests resultats, junt amb els de la glucèmia, no es té de buscar en l'existència d'un transport actiu de glucosa de la mare al fetus, ja que existeix evidència contrària a aquest fet.²³ BURD i col.²⁴ demostren que la placenta sintetitza una considerable quantitat de lactat, a partir de la glucosa i els aminoàcids materns, que és subministrat al fetus de manera eficaç. És molt probable que en els animals injectats amb insulina aquest mecanisme estigui estimulat i, en aquest cas, la radiactivitat apareguda en els fetus no correspondria a la glucosa sinó al lactat.

Finalment, per a cap dels resultats obtinguts es manifestaren diferències entre els fetus d'un i altre corn uterí. El fet que la concentració d'insulina tenia d'ésser superior en la circulació del corn uterí esquerre que en la del dret, junt amb aquest resultat, suggereix que la insulina no té un efecte directe, a nivell de la placenta, sobre el transport de glucosa de la mare al fetus. La diferència entre les nostres dades y les de PAXSON i col.,¹³ esmentades anteriorment, es pot explicar en base al nombre de receptors d'insulina en les placentes de les espècies de que es tracta (rata i ovella, respectivament). En quant a aquests, cal assenyalar que d'entre les diferents espècies estudiades, la placenta de la rata és la que presenta menor nombre de receptors d'insulina,¹ essent aquest molt escassos comparats amb els que es presenten en altres teixits.¹

Molt recentment, STEEL i col.,¹⁰ treballant amb placenta humana, que és relativament rica en receptors insulínics,¹ han observat que la insulina tampoc altera la transferència d'aminoàcids de la mare al fetus.

Aquests resultats, junt amb els nostres, suggereixen per tant que el mecanisme concret del transport placentari dels metabòlits essencials per al fetus és, aparentment, independent de les fluctuacions de la insulinèmia materna.

RESUM. — En el present treball s'ha pretés determinar el possible efecte de la insulina sobre el transport placentari de glucosa. Amb aquesta finalitat es desenvolupà una tècnica de perfusió *in vivo* de l'úter de rata gestant, adequada per a l'estudi de la transferència de metabòlits de la mare al fetus i la possible regulació d'aquesta a nivell de la placenta.

La perfusió de 0,01 U ó 1 U d'insulina pel corn uterí esquerre de rates a 20,5 dies de gestació no produí canvis directes sobre el transport placentari de glucosa U-C¹⁴.

Les esmentades dosis d'insulina produïren una intensa hipoglucèmia materna i solament un lleuger descens en la glucèmia fetal. Canvis paral·lels s'observaren en els nivells de radiactivitat en sang de la mare i dels fetus.

Els resultats permeten suggerir que en situacions d'hipoglucèmia materna el feut es capaç de regular la seva glucèmia, probablement activant la glicogenòlisi i/o gluconeogènesi. Per últim, en aquesta situació, la placenta activaria el subministre al fetus d'altres substrats distintes a la glucosa.

BIBLIOGRAFIA

1. Posner, B. I.: *Diabetes*, 23, 209, 1974.
2. Posner, B. I.: *Diabetes*, 22, 552, 1973.
3. FREINKEL, N., GOODNER, C. J.: *J. Clin. Invest.*, 39, 116, 1960.
4. DURÁN-GARCÍA, S., GÓMEZ NIETO, J., MARAÑÓN CABELLO, A.: *Diabetologia*, 16, 87, 1979.
5. DEMERS, L. M., GABBE, S. G., VILLEE, C. D., GRREP, R. O.: *Endocrinology*, 91, 270, 1972.
6. DIAMANT, Y. Z., SHRAFRIR, E.: *Diabetologia*, 15, 481, 1978.
7. SIMMONS, M. A., JONES, M. D., BURD, L. I., SCHREINER, R. L., MAKOWSKI, E. L., MESCHIA, G., BATTAGLIA, F. C.: *Gynecol. Invest.*, 6, 31, 1975.
8. VILLEE, C. A.: *J. Biol. Chem.*, 205, 113, 1953.
9. DANCIS, J., MONEY, W. L., SPRINGER, D., LEVITZ, M.: *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 101, 820, 1968.
10. STEEL, R. B., MOELEY, J. D., SMITH, C. H.: *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135, 522, 1979.
11. SIMMONS, M. A., JONES, M. D., BATTAGLIA, F. C., MESCHIA, G.: *Pediat. Res.*, 12, 90, 1979.
12. RABAIN, F., PIGON, L.: *Horm. Metab. Res.*, 6, 376, 1974.
13. PAXSON, C. L., MORRIS, F. H. Jr., ADCOCK III, E. W.: *Pediat. Res.*, 12, 864, 1978.
14. TESTAR, X., LASUNCIÓN, M. A., CHERI, R., HERRERA, E.: VIII Congreso de la SEB, Murcia, 1979.
15. WIDDAS, W. F.: *J. Physiol.*, 118, 23, 1952.
16. GOODNER, C. J., FREINKEL, N.: *Diabetes*, 10, 383, 1961.
17. PILDES, R. S.: *Pediatric and adolescent Endocrinology*, vol. 5, Ed. Zvi Laron, Petah Tikva, Tel Aviv, p. 213, 1979.
18. HEDING, L. G.: *Diabetologia*, 8, 260, 1972.
19. HUGGETT, A. S. G., NIXON, D. A.: *Lancet*, 2, 360, 1957.
20. CLAU, T. H., PILKIS, S. J.: *Biochim. Biophys. Acta*, 421, 246, 1976.
21. WILLIAMS, R. H.: *Textbook of Endocrinology*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1974.
22. GOODNER, C. J., CONWAY, M. J., WERRBACH, J. H.: *Pediat. Res.*, 3, 121, 1969.
23. RICE, P. A., ROURKE, J. E., NESBITT, R. E. L. Jr.: *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 133, 649, 1979.
24. BURD, L. I., JONES, M. D. Jr., SIMMONS, M. A., MAKOWSKI, E. L., MESCHIA, G., BATTAGLIA, F. C.: *Nature*, 254, 710, 1975.

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