



- ◆ Trabajo realizado por el equipo de la Biblioteca Digital de CEU-Universidad San Pablo
- ◆ Me comprometo a utilizar esta copia privada sin finalidad lucrativa, para fines de investigación y docencia, de acuerdo con el art. 37 de la M.T.R.L.P.I. (Modificación del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual del 7 julio del 2006)

Premio NOVO-NORDISK de Investigación Básica, 1990

Contradicciones y realidades de los efectos de la insulina sobre el metabolismo.

Emilio Herrera*

Departamentos de Bioquímica y Biología Molecular y de Investigación, Universidad de Alcalá de Henares y Hospital Universitario Ramón y Cajal, 28034-Madrid.

Resumen

La insulina juega un papel esencial en el control de la homeostasis glucídica, permitiendo mantener un estado estacionario de glucosa prácticamente constante tanto en situación post-prandial como en ayunas. Esto lo realiza actuando sobre muchos sitios del metabolismo intermediario, pero sus efectos resultan a veces contrapuestos en función de la situación del sujeto o del tejido de que se trate. Nuestra propia experiencia en este tema a lo largo de los últimos 22 años ha puesto de manifiesto muchas de estas contradicciones, cuya elucidación ha servido para conocer aspectos que consideramos importantes del control hormonal del metabolismo.

Realizando infusiones por la vena porta en la rata en ayunas, y extrayendo sangre a nivel de las venas suprahepáticas, hemos podido observar que a tiempos muy cortos (2 min), tanto la insulina como

la glucosa estimulan la producción de glucosa-C14 a partir de piruvato-3-C14. Ello ocurre con un aumento en la relación lactato/piruvato en el hígado, y contrasta con los conocidos efectos inhibidores de estos dos factores sobre la gluconeogénesis. A su vez, y teniendo en cuenta todos los experimentos realizados con la indicada metodología, hemos observado una correlación lineal entre la formación de glucógeno-C14 hepático a partir del piruvato-3-C14 y los niveles de glucosa en sangre. Estos datos apoyan dos nuevos conceptos del metabolismo glucídico en la situación de realimentación: 1) La insulina y la glucosa estimulan la glucólisis en las células perivenosas del hígado, favoreciendo la formación de lactato, que es utilizado como sustrato gluconeogénico por las células periportales, en las que la actividad de las enzimas gluconeogénicas es alta y en las que la utilización de dicho metabolito favorece el potencial reductor que permite mantener estimulada la gluconeogénesis. 2) La síntesis de glucógeno tiene lugar como una derivación de la gluconeogénesis a expensas de compuestos de 3 átomos de carbono, más que por la vía convencional de la fosforilación directa de la glucosa.

Nuestros experimentos con tejido adiposo blanco "in vitro" muestran que, aunque la insulina inhibe la lipólisis, en presencia de glucosa llega a estimular la acción lipolítica de la epinefrina.

*** Correspondencia:**

Emilio Herrera
Departamento de Investigación.
Hospital Universitario Ramón y Cajal.
Ctra. Colmenar, Km. 9
28034 MADRID

*Recibido, Mayo 1990
Aceptado, Mayo 1990*

Puesto que también hemos observado que en estas condiciones, la insulina favorece la reutilización de glicerol por el tejido, y que otros factores como la albúmina o la propia glucosa también presentan el mismo efecto lipolítico, pensamos que en todos estos casos el mecanismo se realiza disminuyendo el acúmulo intracelular de ácidos grasos libres (FFA). De esta forma, la insulina en presencia de glucosa favorece una mayor disponibilidad de α -glicerol-fosfato, acelerando así la reesterificación de dichos FFA, con lo que se evita la acción inhibitoria de estos sobre la lipasa sensible a las hormonas, y permitiendo que la epinefrina ejerza una máxima acción lipolítica.

Utilizando ratas hepatectomizadas, hemos observado que aunque la insulina disminuye los niveles circulantes de glucosa, no modifica los de glicerol. La diferencia está en que mientras que la insulina estimula la utilización de la primera por prácticamente todos los tejidos, estimula la utilización de glicerol sólo en algunos, como el tejido adiposo marrón, mientras que la inhibe en otros, como corazón y pulmón. Utilizando VLDL de rata premarcadas con ácidos grasos- C^{14} , hemos podido también observar que la insulina acelera la desaparición de estas lipoproteínas de la circulación, favoreciendo la captación de dichos ácidos grasos por el tejido adiposo, mientras que la inhibe en corazón y pulmón. Estos resultados coinciden con cambios en esas mismas direcciones producidos por la insulina en la actividad lipoproteína lipasa en dichos tejidos. Todo ello coincide con la distinta funcionalidad de estos tejidos y sus respectivas capacidades para la síntesis y acúmulo de glicéridos, así como para la utilización de dichos compuestos como sustratos energéticos.

Aunque estos resultados ponen de manifiesto la distinta respuesta que se produce a la insulina en función del tejido de que se trate o de la situación en que se estudie, y a pesar de que ya se conoce la estructura del receptor de esta hormona y bastantes aspectos de su funcionalidad, estamos aún lejos de comprender el mecanismo por el que la insulina desencadena esta variedad de efectos.

Palabras claves: Insulina, Gluconeogénesis, Glucógeno, Lipogénesis, Lipólisis, Glicerol, VLDL.

Contradictions and facts about the effects of insulin on intermediary metabolism

Summary

Insulin plays a key role in the control of glucose homeostasis, allowing the level of circulating glucose both in the fed and fasting condition to be maintained at a practically constant state. This is carried out by acting on different sites of intermediary metabolism, although some of its effects are driven in an opposite direction as function of the nutritional condition or of the tissue. Our own experience in this field during the last 22 years has allowed us to clarify some of these contradictions and in this way it has been possible to discover important aspects of the hormonal control of intermediary metabolism.

By doing infusions through the portal vein in the fasted rat and collecting blood from the suprahepatic veins, we have shown that in a very short space of time, both insulin and glucose enhance the production of ^{14}C -glucose from ^{14}C -pyruvate. This effect occurs with an increase in the liver lactate/pyruvate concentration ratio. Besides this, and by taking into account all the experiments that we carried out with the same methodology, a lineal correlation was found between the appearance of hepatic ^{14}C -glycogen and plasma glucose levels. These findings give support to 2 new concepts of carbohydrate metabolism in refeeding: 1) Both insulin and glucose heighten glycolysis in the hepatic perivenous cells, favoring the production of lactate which is used as gluconeogenic substrate by the periportal cells. Under this condition, the activity of gluconeogenic enzymes is still high, and the use of such a substrate favors the proper redox potential change to enhance gluconeogenesis in spite of augmented glycolytic activity. 2) Glycogen synthesis takes place as a derivation of gluconeogenesis at the expenses of 3 carbon compounds rather than the direct phosphorylation of glucose.

Our experiments with adipose tissue "in vitro" show that although insulin inhibits lipolysis, in the presence of glucose, it expands the lipolytic effect of epinephrine. Under these conditions insulin also enhances the reutilization of glycerol by the tissue, and other factors such as albumin and glucose also increase lipolysis. Under all of these circumstances

there is a reduction of intracellular free fatty acids (FFA) concentration. We therefore think that by favoring the disposal of α -glycerol-phosphate, insulin in the presence of glucose favors FFA reesterification decreasing their inhibitory action on hormone sensitive lipase and allowing the maximal lipolytic action of epinephrine to be exerted.

By using hepatectomized rats we have shown that insulin doses that intensely decrease plasma glucose concentration do not affect the levels of glycerol. The difference is based on the fact that whereas insulin stimulates the utilization of glucose by all the tissues, it heightens the use of glycerol in only some of them, as is the case of brown adipose tissue, which decreases it in others such as heart and lungs. Using ¹⁴C-fatty acids prelabelled VLDL, we have also shown that insulin enhances their clearance from circulation favoring the uptake of those fatty acids in adipose tissue and decreasing it in heart and lungs. These findings also coincide with similar effects of insulin on lipoprotein lipase activity in the same tissues. All of this fits with the functional differences of those tissues and their respective capacities to synthesise glycerides and to oxydize those compounds as energetic fuels.

Although these findings show the different response to insulin as a function of the tissue or of the physiological condition, and in spite that, most aspects of the structure and function of the insulin receptor are already known, we are still far from understanding the mechanism through which the hormone develops all these various effects.

Key words: Insulin, Gluconeogenesis, Glycogen, Lipogenesis, Lipolysis, Glycerol, VLDL.

Introducción

Un principio básico de la endocrinología es que una hormona puede actuar de forma independiente o coordinada con otras. A su vez, una misma hormona puede tener efectos diferentes en diversos tejidos, e incluso en un mismo tejido sus efectos pueden variar en función de la edad, la situación nutritiva, etc. (1). La insulina no solamente no constituye una excepción de esta regla, sino que por propia experiencia hemos podido observar que varios de

sus efectos sobre el metabolismo llegan a ser contrapuestos o incluso contradictorios, según la situación nutricional del sujeto en estudio, de su respuesta en un tejido frente a otro o incluso en función de su interacción con otras hormonas.

En base a sus efectos metabólicos más intensos, rápidos y característicos, se considera que la principal función de la insulina es el controlar la homeostasis glucídica, evitando los aumentos de los niveles de glucosa circulante al inhibir la síntesis hepática de glucosa y acelerar el transporte de ésta a los tejidos para su utilización y almacenamiento. En la dirección opuesta, la homeostasis glucídica es modulada también por otras hormonas como las catecolaminas y en particular por el glucagón, que se libera en situaciones de hipoglucemia y estimula la producción hepática de glucosa al activar la glucogenolisis (degradación de glucógeno) y la gluconeogénesis (síntesis de glucosa).

La coordinación de los efectos de estas hormonas hace que, en condiciones fisiológicas, el estado estacionario de glucosa en sangre se mantenga dentro de un margen muy estrecho, entre 80 y 100 mg/dl, incluso con independencia de la situación alimenticia del individuo. Así, como se muestra en la figura 1a, en condiciones post-prandiales se consigue un equilibrio entre lo que llega de glucosa por el tracto gastrointestinal y lo que se consume por los distintos tejidos. El sistema está de hecho tamponado por la capacidad del hígado para acumular en forma de glucógeno el exceso de glucosa, cuando los niveles de ésta aumentan en sangre por encima de determinado nivel umbral. En ayunas (fig. 1b), la falta de llegada de glucosa del exterior es compensada inicialmente por el propio hígado mediante una activación de la degradación del glucógeno que se había acumulado (glucogenolisis) y de la síntesis de glucosa (gluconeogénesis), a expensas de distintos sustratos. Ambos cambios permiten que, en ayunas, el hígado se transforme ahora en un exportador de glucosa a la circulación. La aumentada producción de glucosa por el hígado es coadyuvada por una reducción del consumo de glucosa en gran parte de los tejidos extrahepáticos, que con la excepción del tejido nervioso y algunas vísceras, incrementan el consumo de los ácidos grasos libres (FFA) derivados de la activa lipolisis del tejido adiposo, como sustratos energéticos alternativos. Todo ello permite mantener ese estado estacionario de glucosa por tiempos relativamente prolongados de ayuno.

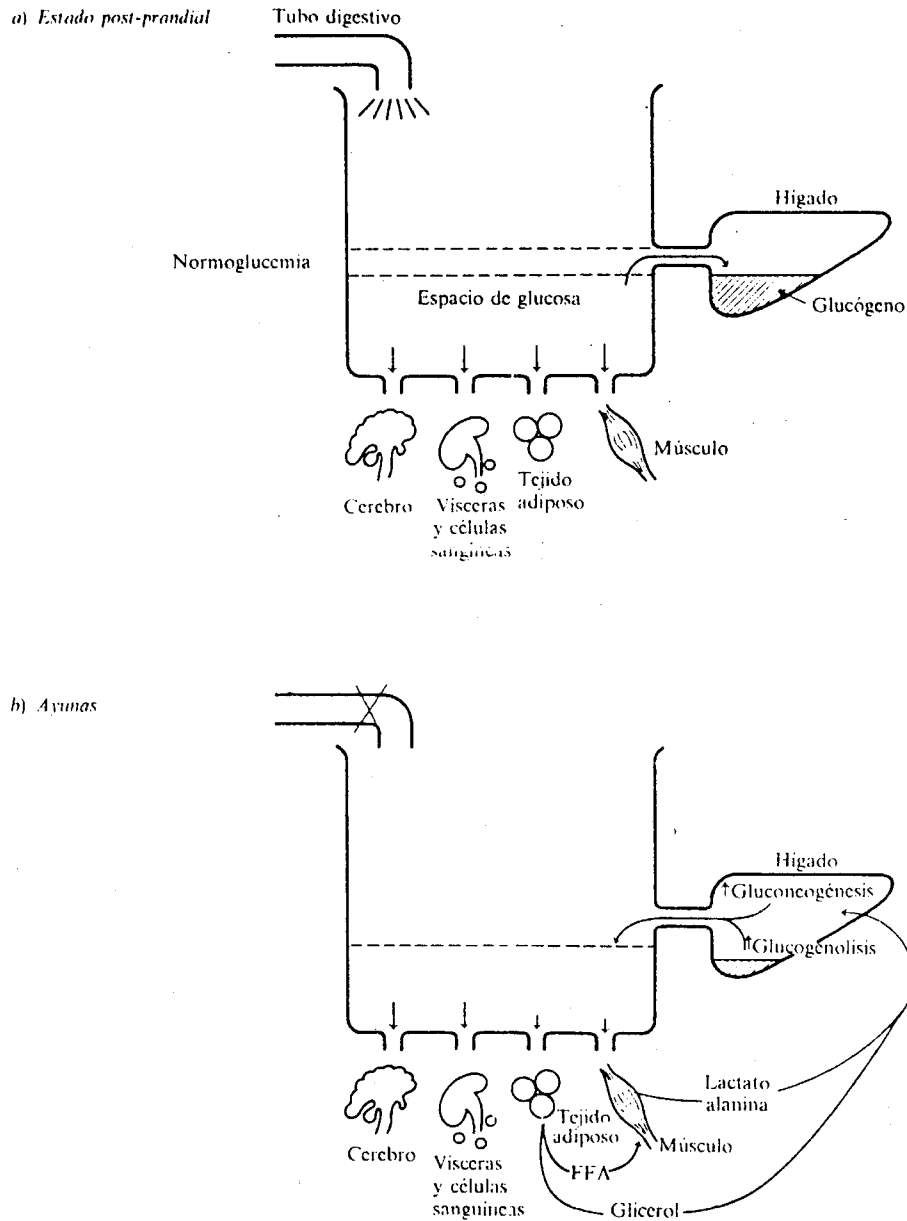


Figura 1: Esquema del mantenimiento de la homeostasis glucídica en los estados post-prandial (a) y en ayunas (b). FFA = Ácidos grasos libres.

Este esquema es una simplificación de toda la serie de complejos cambios metabólicos que llevan al mantenimiento de la homeostasis glucídica. El conocimiento de la forma en que la insulina ejerce sus efectos moduladores sobre estas interrelaciones metabólicas se ha ido dilucidando en los últimos años, aunque aún quedan pendiente diversas cuestiones por aclarar. Aquí vamos a resumir nuestra propia experiencia sobre el tema, haciendo especial énfasis en aquellos hallazgos que a pesar de haber sido considerados inicialmente contradictorios, han contribuido de forma importante a esclarecer la

manera en que la insulina modula esas vías metabólicas.

Efectos sobre la gluconeogénesis

Utilizando un diseño experimental que ya hemos publicado (2), estudiamos el efecto de la administración subcutánea de 1 UI de insulina bovina monocomponente (Actrapid, de Novo Industri A/S, Copenague, Dinamarca)/Kg de peso o de 4 dosis sucesivas (las 3 primeras de 0.6 UI y la última de 1 UI/Kg) sobre la conversión

de piruvato-3-C14 administrado por vía intravenosa en glucosa, en ratas en ayunas de 24 horas. La última administración de insulina siempre se realizó a los 15 min antes que el trazador, con el fin de conseguir conocer los efectos agudos o subagudos de la hormona. En ambos casos, y como cabía esperar, la insulina produjo una reducción de la conversión del piruvato-3-C14 en glucosa, como muestra de inhibición de la gluconeogénesis (2). Resultados similares se obtuvieron cuando el sustrato era alanina-U-C14, siguiendo un protocolo experimental distinto al anterior (3).

En estos experimentos, era sin embargo chocante el que, a pesar de ese efecto, la hormona no afectara la actividad específica de la glucosa-C14 en plasma (2). Con el fin de esclarecer este punto, y con el propósito también de determinar el mínimo tiempo en que la insulina producía su efecto inhibitorio sobre la gluconeogénesis hepática, realizamos un experimento aún más agudo, en el que la hormona y el trazador eran directamente administrados al hígado de la rata en ayunas de 24 h y bajo anestesia, mediante una cánula introducida por la vena ileocólica hasta el nivel de vena porta. Otra cánula se introdujo por la vena yugular y se canalizó a través de la cava superior e inferior, hasta las suprahepáticas, para la extracción de sangre. De esta manera podíamos determinar directamente, e "in situ", la cantidad de glucosa-C14 formada por el hígado a partir del trazador que era infundido por la vena porta. Los resultados obtenidos y el resto de los detalles metodológicos ya se han publicado (4, 5). Como se observa en la figura 2, en vez de una inhibición de la gluconeogénesis, la hormona produjo un aumento en la aparición de glucosa-C14, que era significativo ya a los 2 min del inicio de su infusión. En este caso, la insulina produjo un incremento en la actividad específica de la glucosa-C14 que aparecía en sangre desde el primer minuto de la infusión, e incluso el efecto era dependiente de la dosis de insulina infundida.

Al igual que la insulina, un aumento de los niveles de glucosa en sangre normalmente se asocia con una inhibición de la gluconeogénesis, aunque había datos en la literatura que mostraban que, en determinadas situaciones de elevación de los niveles circulantes de glucosa e insulina, el hígado podía seguir produciendo una elevada cantidad de glucosa (6). Por ello, y en base a nuestros propios resultados a tiempos muy cortos con la insulina, aplicamos el mismo protocolo experimental de la infusión a nivel de

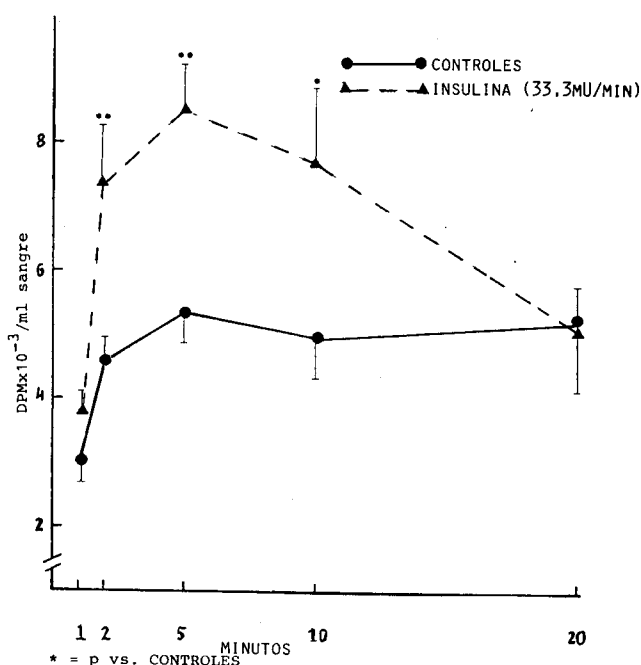


Figura 2: Aparición de glucosa-C14 en sangre recogida de las venas suprahepáticas en ratas en ayunas de 24 h e infundidas a través de la vena porta con piruvato-3-C14 y el medio (controles) o insulina. Datos procedentes de la ref. 4.

la vena porta en animales en ayunas de 24 horas con dosis crecientes de glucosa. Nos encontramos que a determinada dosis (20.8 mg/min), la glucosa también producía a partir de los 2 min de su infusión al hígado, un aumento de la propia formación de glucosa-C14 a partir del piruvato-3-C14 (5).

Estos datos indicaban que, en las condiciones del experimento, en animales en ayunas y a tiempos extremadamente cortos de la llegada al hígado de la insulina o la glucosa administrados por la vena porta, estos factores estimulaban directamente la gluconeogénesis hepática. Ello contrastaba con los conocidos efectos inhibitorios de la insulina y la glucosa sobre la gluconeogénesis, y por este motivo, aunque los resultados fueron obtenidos ya en 1979 (7), nos encontramos con serias dificultades para su publicación, la cual no pudo aparecer hasta 1985 (4, 5). En estas publicaciones ya apuntábamos que el efecto podía estar justificado por la conocida zonación hepática. Esto supone que los hepatocitos de la zona periportal, además de estar expuestos a una elevada presión parcial de oxígeno (P02 de unos 65 mm Hg, ref. 8), presentan una activa gluconeogénesis (9, 10), mientras que los de la zona perivenosa, con una presión parcial de oxígeno más baja (del orden de 30 a 35 mm Hg, ref. 8), presentan una más activa glucólisis (9, 11). Con este planteamiento, el esquema clásico

de que las vías glucolíticas y gluconeogénica se encuentran ubicadas en una misma célula a manera de una carretera con dos direcciones (figura 3), puede ser modificado de tal forma que cada una de estas vías discurre preferentemente en células parenquimatosas distintas, como si se tratara de una autopista con sus dos vías separadas (figura 3). A diferencia del primer modelo, en el que una activa glucolisis sería incompatible con una acelerada gluconeogénesis, en este modelo zonal puede entenderse la coexistencia de ambos procesos activados de forma simultánea.

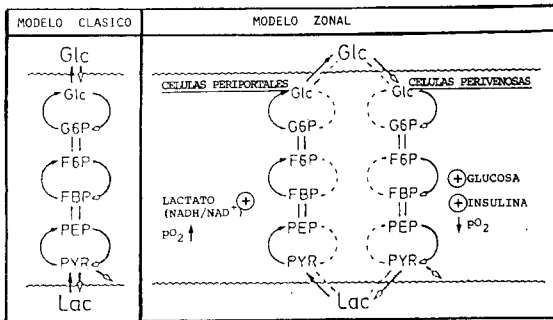


Figura 3: Esquemas que representan el modelo clásico y el modelo zonal de la glucólisis (producción de lactato a partir de glucosa) y la gluconeogénesis (producción de glucosa a partir de lactato), indicando las diferencias en las presiones de oxígeno y efectos de la glucosa, insulina y lactato en la fase de realimentación.

En base a nuestros resultados, obtenidos en animales en ayunas y a tiempos muy cortos de la administración de insulina o glucosa, pensamos que la situación sería comparable a la de re-alimentación. Así, a los primeros minutos de la re-alimentación tras el ayuno, cuando la actividad de las enzimas gluconeogénicas es aún alta, la llegada de glucosa y el aumento de los niveles circulantes de insulina favorecen la producción de ácido láctico por la glucólisis en la zona perivenosa. El consumo de este lactato en la zona periportal favorece la producción de NADH, contribuyendo así a la activa gluconeogénesis (figura 3). Esta interpretación ha sido recogida y corroborada posteriormente por otros autores (12) para explicar la denominada "paradoja de la glucosa", la cual tiene un importante sentido fisiológico ya que permite justificar la inmediata recuperación de las reservas glucídicas en la re-alimentación. De hecho, esta interpretación concuerda también con un nuevo concepto de la vía de síntesis de glucógeno, que también nosotros hemos estudiado.

Síntesis de glucógeno en la re-alimentación

Clásicamente, la síntesis de glucógeno a partir de glucosa se considera que tiene lugar por la vía directa de su fosforilación a glucosa-6-fosfato y posterior transformación en glucosa-1-fosfato, UDP-glucosa e incorporación en la molécula de glucógeno. Con este esquema, era difícil interpretar un hecho que habíamos observado desde hace años y de forma reiterada en nuestros experimentos de gluconeogénesis (13-15): cuando esta vía la estudiábamos en animales en ayunas y utilizábamos compuestos radioactivos de 3 átomos de carbono, como por ejemplo el piruvato, alanina o glicerol, siempre observábamos una activa incorporación de radioactividad en el glucógeno hepático, con una elevada actividad específica. Este resultado indicaba una activa glucogénesis a partir de sustratos gluconeogénicos, pero por un lado, contrastaba con la baja concentración hepática de glucógeno en el ayuno y por otro, con la relación directa existente entre los niveles circulantes de glucosa y la glucogénesis (16).

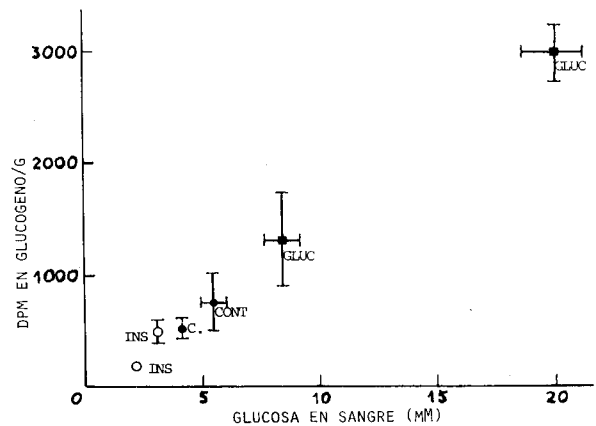


Figura 4: Relación existente entre los niveles de glucosa en sangre y la aparición de radioactividad en glucógeno hepático a partir de piruvato-3-C14 después de 20 min de infusión de glucosa, insulina o medio (controles) a través de la vena porta en la rata en ayunas. Datos procedentes de la ref. 16.

Un análisis detallado de la relación existente entre la incorporación de piruvato-3-C14 en glucógeno hepático y los niveles de glucosa circulantes en experimentos realizados con ratas en ayunas de 24 horas tratadas con una infusión previa de insulina 33 mU/min, con glucosa (43 ó 116 umoles/min) o con el medio, nos ha permitido observar una correlación lineal y altamente significativa ($p < 0.001$) entre ambos parámetros (figura 4). Dado que todos estos experimentos eran realizados en animales en

ayunas, en los que la actividad gluconeogénica está aumentada, y que la administración de estos sustratos, y en particular de la glucosa, supone el inicio de la fase de "re-alimentación", puede concluirse que en estas condiciones, la síntesis de glucógeno pasa por la formación de compuestos de 3 carbonos antes de su conversión a glucosa-6-fosfato. Así pues, nuestros resultados apoyan la modificación del esquema convencional de síntesis del glucógeno de la forma que se indica en la figura 5 como "modelo alternativo". Ello es compatible, a su vez, con la activa lipogénesis y de la vía de las pentosas que tiene lugar en esta situación de "re-alimentación", las cuales son también moduladas por la insulina.

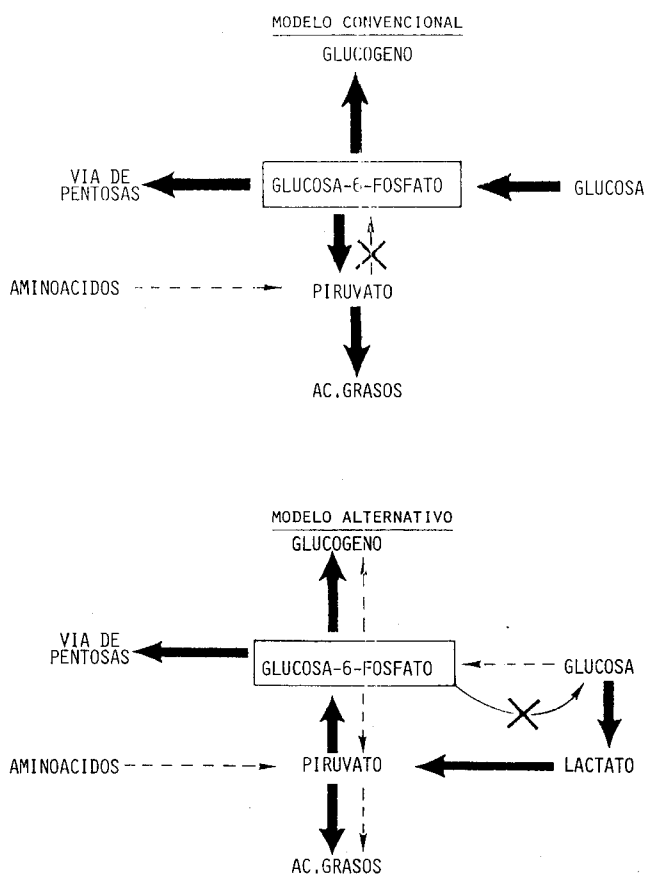


Figura 5: Modelos convencional y alternativo de la síntesis hepática de glucógeno en la situación de realimentación. Los datos aquí presentados apoyan el modelo alternativo, por el que el glucógeno se sintetiza preferentemente a partir de compuestos de 3 átomos de carbono.

Extrapolando esta hipótesis a la situación "in vivo", el esquema de las interrelaciones entre los tejidos extrahepáticos y el hígado a tiempos cortos de re-alimentación, puede resumirse como se representa de forma esquemática en la figura 6. En ella se indica que la síntesis de glucógeno

en hígado tiene lugar a expensas de diferentes sustratos de 3 átomos de carbono, lactato, piruvato o alanina, procedentes de los tejidos extrahepáticos, los cuales no son gluconeogénicos.

Interrelaciones metabólicas entre carbohidratos y lípidos

En la figura 7 hemos resumido las principales interrelaciones entre el metabolismo hidrocarbonado (glucolisis, gluconeogénesis y metabolismo del glucógeno) y el metabolismo de ácidos grasos y glicéridos. La forma en que la insulina afecta globalmente a estas interrelaciones se muestra en los resultados que se resumen en la figura 8, correspondientes a experimentos realizados con el tratamiento subagudo con la hormona (4 inyecciones de 0.6 UI/Kg durante un período global de 24 h en la rata). La hormona, al mismo tiempo que inhibe la gluconeogénesis, inhibe también la formación de glicerol de glicéridos y estimula la lipogénesis (síntesis de ácidos grasos) a partir de un mismo sustrato, el piruvato-3-C14.

Estos efectos son los que cabría esperar para la insulina, ya que, por un lado, es bien conocido que la insulina activa la lipogénesis, pero por otro lado, y como comentaremos más adelante, inhibe la llegada de ácidos grasos al hígado como consecuencia de su acción antilipolítica, y la esterificación de éstos en la síntesis de glicéridos. Sin embargo, en lo que hace referencia a la formación de estos glicéridos, de nuevo encontramos una contradicción en los efectos de la insulina, ya que depende de las condiciones de los animales. Así, cuando la formación de glicerol de glicéridos era estudiada en ratas en ayunas infundidas con insulina por la vena porta durante períodos cortos, nos encontramos que en vez de una inhibición, la administración de insulina o de glucosa producía un incremento de la conversión de piruvato-3-C14 en glicerol de glicéridos (5, 7, 15).

Recordemos aquí que en esos animales en ayunas, la gluconeogénesis estaba aumentada. De hecho, independientemente de los tratamientos a los que eran sometidos los animales y el sustrato administrado, nosotros siempre hemos encontrado una correlación lineal entre síntesis de glucosa y formación de glicerol de glicéridos. Ello nos indica, por un lado, que los efectos de la insulina sobre esta vía son secundarios a los

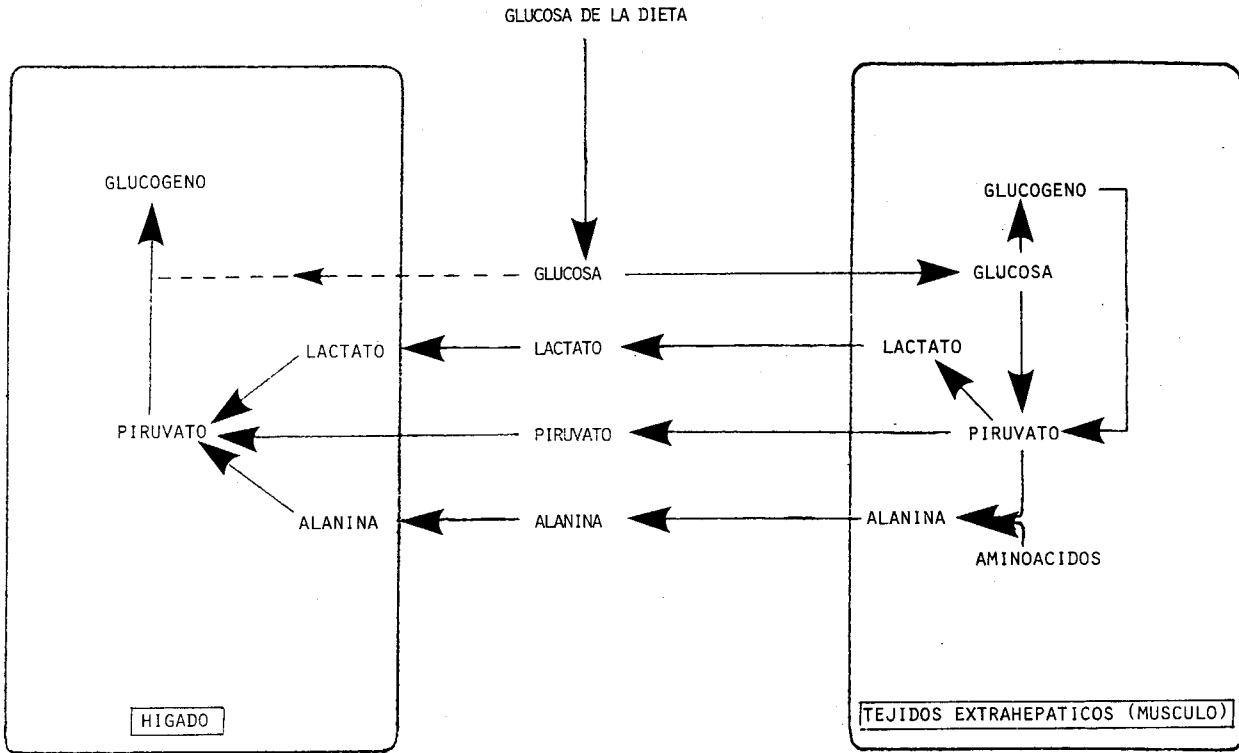


Figura 6: Extrapolación al animal "in vivo" del modelo alternativo de síntesis de glucógeno en la realimentación.

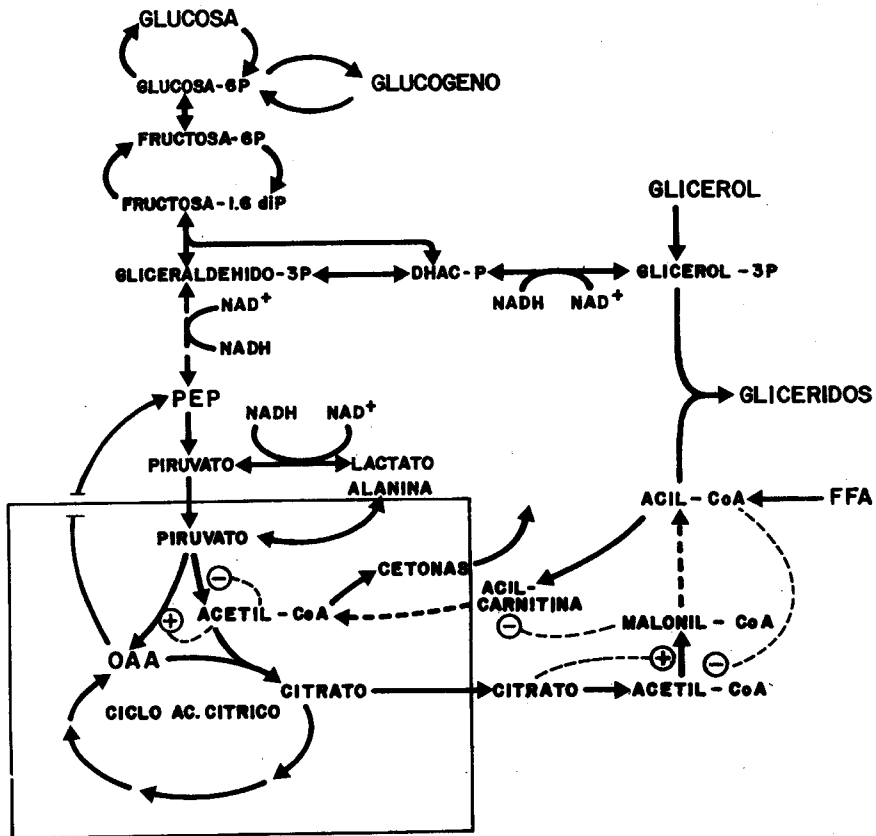


Figura 7: Esquema global de las principales interrelaciones entre el metabolismo hidrocarbonado y lipídico en el hígado, con indicación del control por efectores alostéricos de las principales reacciones que modulan la síntesis y utilización de los ácidos grasos (acil-CoA).

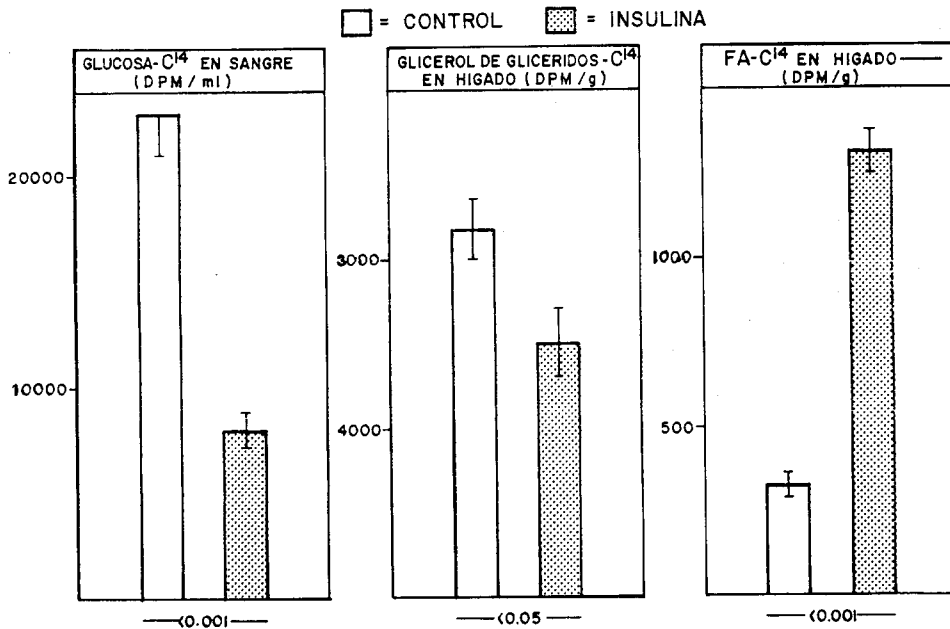


Figura 8: Efecto subayudo de la insulina (4 inyecciones de 0.6 UI/Kg de peso corporal, en un periodo total de 24 h) en la rata sobre la formación de glucosa, glicerol de glicéridos y ácidos grasos a partir de piruvato-3-C¹⁴. Datos procedentes de la ref. 2.

que ejerce sobre la gluconeogénesis, y por otro, que la formación del glicerol de glicéridos a partir de compuestos con 3 átomos de carbonono no es más que una derivación de la gluconeogénesis, como en última instancia también lo era la síntesis de glucógeno en la situación de re-alimentación.

Lipolisis del tejido adiposo

Dentro ya del metabolismo lipídico, caben destacar los efectos de la insulina sobre la lipolisis del tejido adiposo, la cual es, por definición, la liberación de ácidos grasos libres (FFA) y glicerol a partir de la hidrólisis de los triglicéridos, por acción de la lipasa sensible a las hormonas (17). Es bien conocido que la actividad de esta enzima es estimulada por las hormonas "lipolíticas", y en particular las catecolaminas, el ACTH y el glucagon, mientras que es inhibida por la insulina (18), de la forma que se esquematiza en la figura 9.

De acuerdo con este esquema de modulación de la lipolisis, cuando se incuban trozos de tejido adiposo de la rata en medio glucosa, resulta que la insulina produce una ligera disminución de la liberación neta de glicerol al medio de incubación como índice de disminución de la lipolisis, mientras que la epinefrina la estimula, y este efecto de la epinefrina es inhibido intensamente por la insulina (19, 20). Por el

contrario, cuando realizamos la misma incubación pero en presencia de concentraciones fisiológicas de glucosa en el medio de incubación (5 mM), nos encontramos que aunque la insulina y epinefrina continúan manifestando sus respectivos efectos antilipolítico y lipolítico, la insulina estimula aún más el efecto de la epinefrina cuando ambas hormonas se adicionan conjuntamente al medio de incubación (20, 21).

Así pues, de nuevo aquí nos encontramos con una contradicción de los efectos de la insulina,

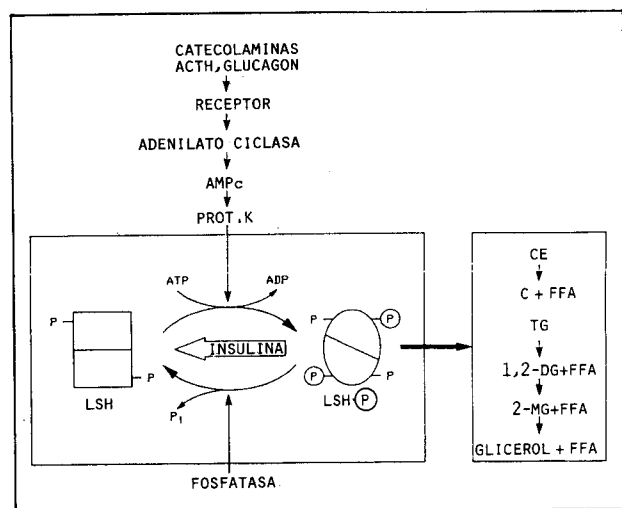


Figura 9: Esquema del control hormonal de la lipasa sensible a las hormonas, como moduladora de la lipolisis del tejido adiposo.

que justifica a su vez las dificultades encontradas por muchos autores, incluidos nosotros mismos (19, 22), para mostrar los efectos antilipolíticos de la insulina en determinadas condiciones experimentales.

Nosotros habíamos demostrado hace unos años la capacidad del tejido adiposo para reutilizar parte del glicerol que se libera en la lipólisis (23, 24). Por ello pensamos que esa acción "lipolítica" de la insulina en presencia de epinefrina y glucosa, podría ser un efecto secundario derivado de su acción sobre esa reutilización del glicerol. Realmente, como ya hemos descrito anteriormente (20, 21), la insulina estimula intensamente la utilización de glicerol-1-C14 por el tejido adiposo para la lipogénesis, pero este efecto se produce sólo cuando la incubación se realiza en presencia de glucosa. A su vez, la epinefrina inhibe esta utilización del glicerol, y la insulina desinhibe este efecto (20, 21).

Estos y otros experimentos similares nos permiten llegar a la siguiente interpretación: por un lado, los efectos de la insulina estimulando la reutilización del glicerol liberado en la lipólisis del tejido adiposo se realizan en forma secundaria a su acción sobre el metabolismo de la glucosa, ya que no se presentan en ausencia de ella. Por otro lado, en ausencia de insulina y glucosa, la actividad lipolítica de la epinefrina no se manifiesta en su plenitud debido al acúmulo intracelular de parte de los ácidos grasos libres liberados, los cuales se sabe que inhiben a la lipasa sensible a las hormonas (25). Así pues, el efecto de la insulina estimulando la reutilización del glicerol facilita una eficaz reesterificación de esos ácidos grasos libres acumulados intracelularmente, impidiendo dicho acúmulo cuando el tejido estaba incubado sólo con epinefrina y glucosa y, por consiguiente, evitando la inhibición que ellos producían sobre la enzima. Esto permite un máximo estímulo de la lipólisis por parte de la epinefrina, y globalmente el sistema funciona como se resume de forma esquemática en la figura 10. Realmente, en base a los resultados antes comentados y otros relacionados, también publicados por nosotros (20, 21, 26, 27), pensamos que la acción de la epinefrina estimulando a la lipasa sensible a las hormonas permanece en presencia de insulina, y que la presencia conjunta de ésta con la glucosa favorecen la reutilización de glicerol y de la propia glucosa para la formación del glicerol-1-fosfato, permitiendo así la adecuada reesterificación de los ácidos grasos libres que se van liberando. Ello estimula la actividad lipolítica

del tejido, ya que evita el acúmulo intracelular de estos ácidos grasos y, por tanto, su acción inhibidora sobre la lipasa sensible a las hormonas.

Esa interpretación concuerda también con otros hallazgos en los que logramos estimular la actividad lipolítica del tejido adiposo incubándolo bien con cantidades crecientes de albúmina libre de ácidos grasos (28) o bien de glucosa (29, 30). En el primer caso, por su acción ligante de ácidos grasos libres, la albúmina también evita el acúmulo intracelular de éstos y, con ello, desinhibe a la lipasa dependiente de hormonas, mientras que en el caso de la glucosa, su metabolismo permite el aporte de glicerol-1-fosfato necesario para facilitar la esterificación de todos los ácidos grasos libres que se vayan acumulando intracelularmente, dando lugar al mismo efecto.

Metabolismo del glicerol "in vivo"

Dados los efectos tan peculiares de la insulina sobre la lipólisis y el metabolismo del glicerol en el tejido adiposo, pensamos que era interesante conocer la forma en que esta hormona afectaba los niveles circulantes de glicerol y su propio metabolismo "in vivo". El tema era interesante, ya que se conocía que aunque la administración de insulina disminuía los niveles de glicerol en sujetos normales (31, 32), estos cambios no eran paralelos a los de los otros productos de la lipólisis, los ácidos grasos libres (31), e incluso también se sabía que había situaciones como el ayuno de 48 horas en la rata, en las que la administración de insulina no afectaba dichos niveles de glicerol (33). A su vez, por nuestros propios resultados sabíamos que el hígado es el principal receptor del glicerol circulante (34), y que su metabolización por este órgano era enormemente rápida (35). Por ello, consideramos que la mejor forma de abordar este tema era utilizando animales funcionalmente hepatectomizados, ya que ello nos permitía estudiar los efectos de la insulina sobre el metabolismo del glicerol en tejidos extrahepáticos.

Utilizando el diseño experimental descrito anteriormente por nosotros (36, 37), estudiamos de forma comparativa los efectos de la insulina sobre los niveles de glicerol y glucosa. Como vemos en la figura 11, mientras que la insulina produjo un intenso efecto hipoglucemiante, no modificó los niveles de glicerol en sangre.

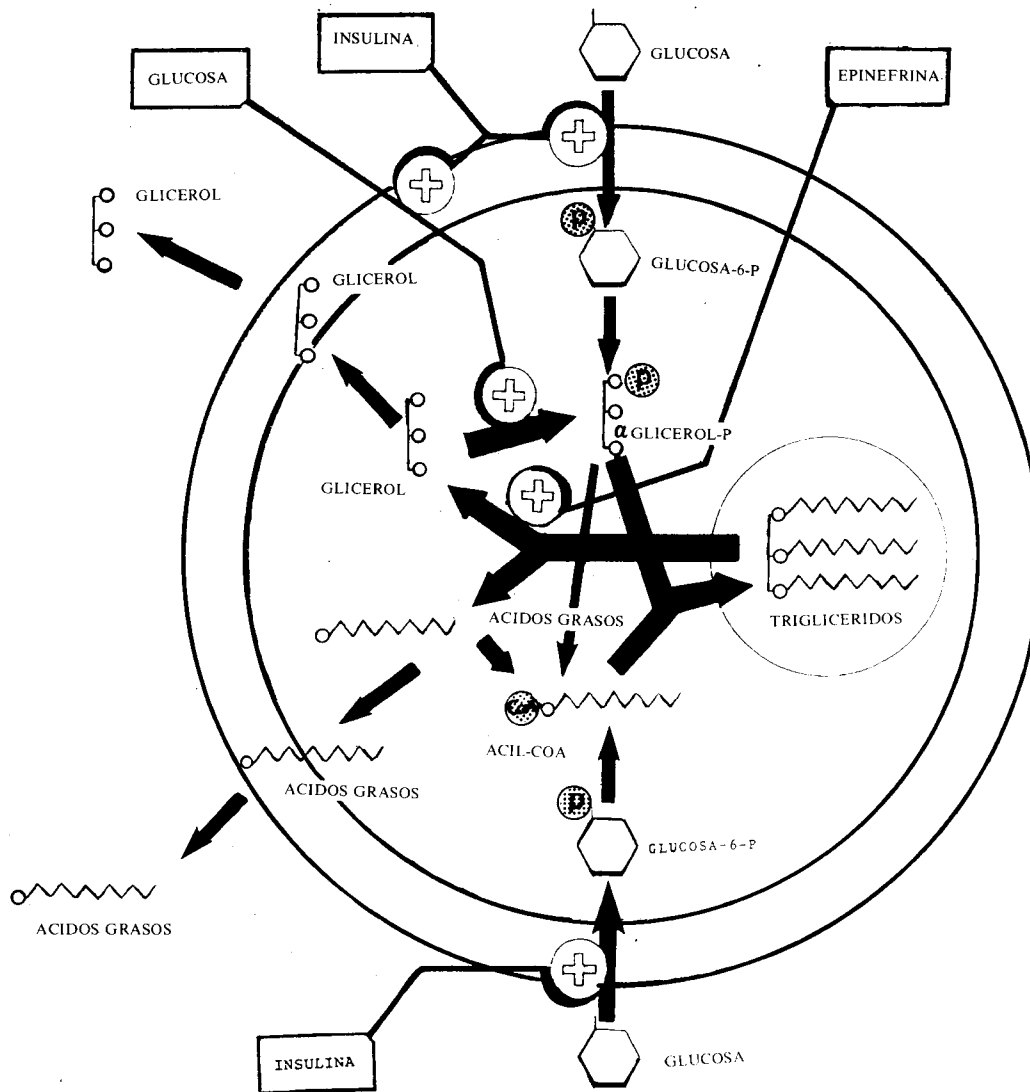


Figura 10. Esquema de los efectos conjuntos de la insulina y epinefrina, en presencia de glucosa, sobre el metabolismo del glicerol y la lipólisis del tejido adiposo.

Aparentemente, y a diferencia de lo observado en los experimentos con tejido adiposo "in vitro", estos datos indicaban que la insulina no afectaba al metabolismo del glicerol, lo cual suponía una nueva contradicción con relación a los otros efectos de esta hormona sobre la lipólisis. Sin embargo, cuando administramos simultáneamente a la insulina bien glucosa-U-C14 ó bien glicerol-U-C14, nos encontramos que la hormona estimulada la incorporación de radioactividad a partir de glucosa a todos los tejidos estudiados (fig. 12). Por el contrario, cuando la radioactividad era administrada en forma de glicerol, la insulina inhibía su incorporación a los lípidos de unos tejidos, como el corazón y el pulmón, mientras que la estimulaba en otros,

como el tejido adiposo marrón (fig. 13). Así pues, los efectos de la insulina sobre el consumo del glicerol para formar glicerol de glicéridos en los distintos tejidos variaban en dirección opuesta de unos a otros, y ello explicaba las dificultades encontradas para llegar a observar un cambio en los niveles circulantes de glicerol tras el tratamiento con esta hormona.

Aparte de explicar esta nueva contradicción de los efectos metabólicos de la insulina, los presentes resultados ponían de manifiesto unas diferencias importantes entre los distintos tejidos en su respuesta a la hormona en cuanto a la formación de glicerol de glicéridos a partir de glicerol. Ello nos llevó a su vez a abordar el tema

RESPUESTA A LA INSULINA EN RATAS HEPATECTOMIZADAS

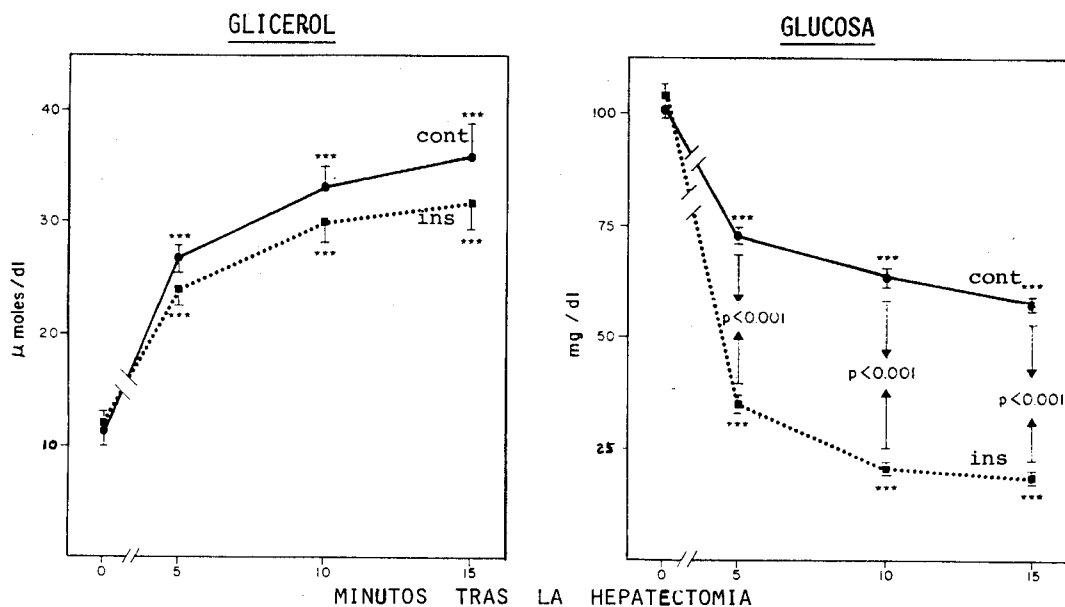


Figura 11: Efectos agudos de la insulina (1 UI/Kg de peso corporal) sobre los niveles sanguíneos de glucosa y glicerol en la rata hepatectomizada. Datos procedentes de la ref. 37.

de la respuesta a la insulina en estos tejidos desde la perspectiva de la hidrólisis y captación de los triglicéridos que circulan en sangre asociados a las lipoproteínas ricas en ellos.

Metabolismo de las VLDL

Como continuación del estudio anterior,

decidimos determinar la forma en que la insulina afectaba el metabolismo extrahepático de las lipoproteínas ricas en triglicéridos de origen endógeno; es decir, las VLDLs y la enzima clave que controla su catabolismo, la lipoproteína lipasa (LPL). Como vemos en la figura 14, esta enzima controla no sólo la conversión de las VLDL en las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), y por tanto, en las LDL, sino también el destino tisular del producto de la hidrólisis de los triglicéridos que transportan, los ácidos grasos libres y el glicerol.

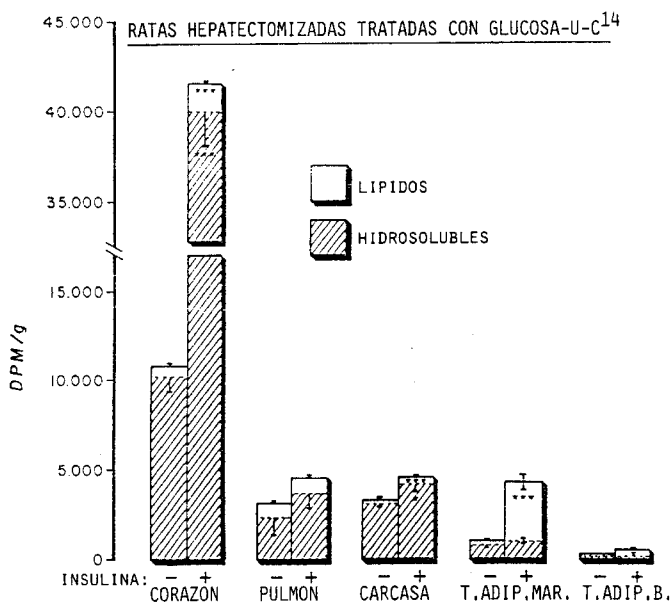


Figura 12: Efectos de la insulina (1 UI/Kg) sobre la utilización por distintos tejidos de glucosa-U-C¹⁴ en la rata hepatectomizada. Datos procedentes de la ref. 37.

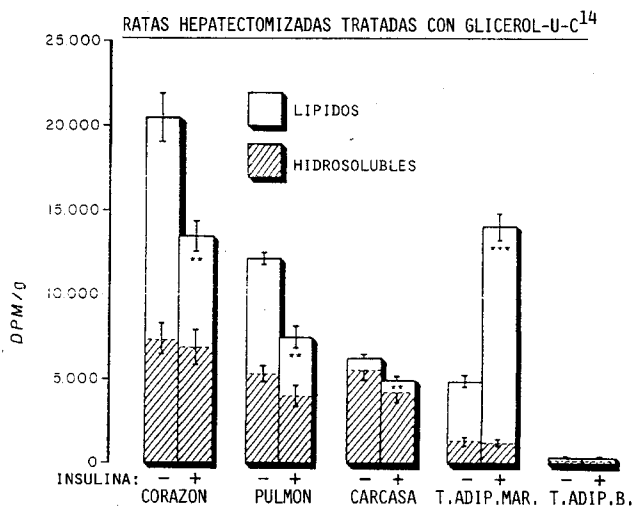


Figura 13: Efectos de la insulina (1 UI/Kg) sobre la utilización por distintos tejidos de glicerol-U-C¹⁴ en la rata hepatectomizada. Datos procedentes de la ref. 37.

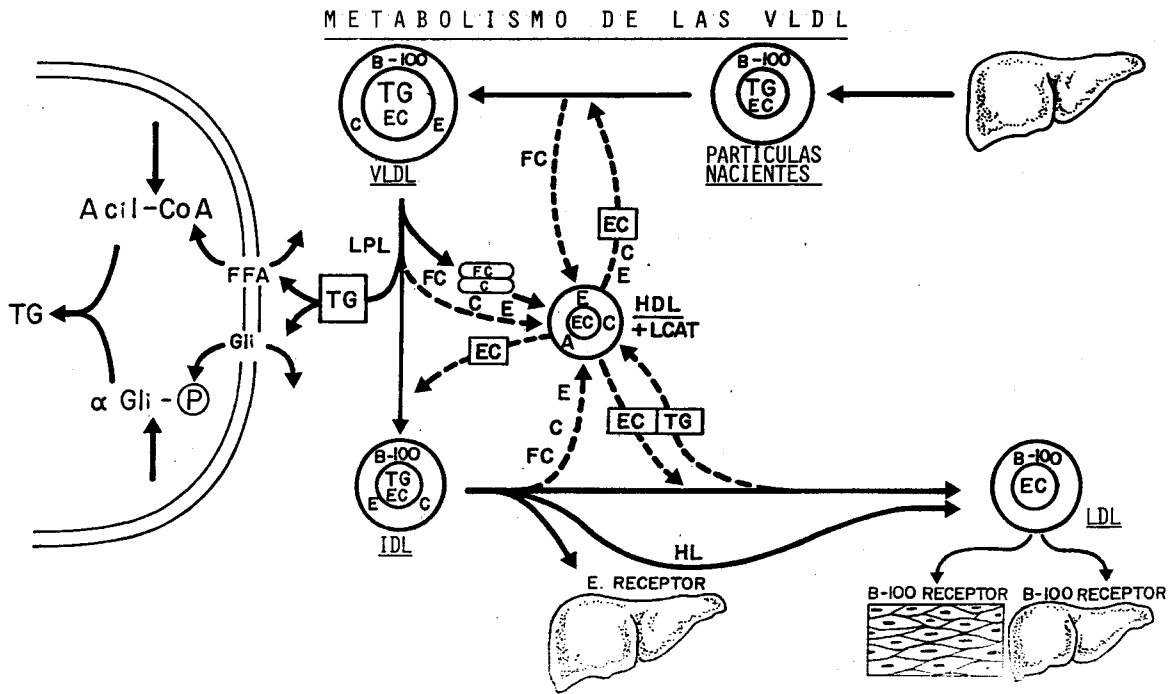


Figura 14: Esquema global del metabolismo de las VLDL.

Utilizando también animales hepatectomizados, y siguiendo el diseño experimental ya descrito anteriormente (38), observamos que, como se resume en la figura 15, la insulina acelera la desaparición de VLDL-C14 de la circulación, administradas previamente por vía intravenosa, mientras que favorece su conversión en lipoproteínas de densidad intermedia (IDL). A su vez, como se muestra en la figura 16, y de la misma manera que hacía con el glicerol, la administración de insulina a las ratas hepatectomizadas que recibieron VLDL-C14 les estimula la captación de lípidos-C14 en determinados tejidos, como el tejido adiposo, mientras que la inhibe en otros, como el corazón y el pulmón.

Estos datos indican, a su vez, que la hormona produce también efectos opuestos en la actividad de lipoproteína lipasa en estos tejidos. Esta enzima se sintetiza en el interior celular en forma inmadura e inactiva, y migra al endotelio capilar donde se ancla mediante moléculas del tipo de los heparán sulfato, manifestando así su actividad (39). Aunque la estructura de esta enzima parece ser igual para los distintos tejidos, su actividad varía ante determinados estímulos fisiológicos de forma diferente en unos con relación a otros (40-42), y de esta forma controla el destino tisular de los triglicéridos circulantes. En este sentido, la

insulina no resulta ser una excepción, ya que modifica la actividad de la LPL en distinta dirección según el tejido de que se trate. Sus efectos incrementando la actividad de la LPL en

LÍPIDOS C-14 EN LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS (RATAS HEPATECTOMIZADAS)

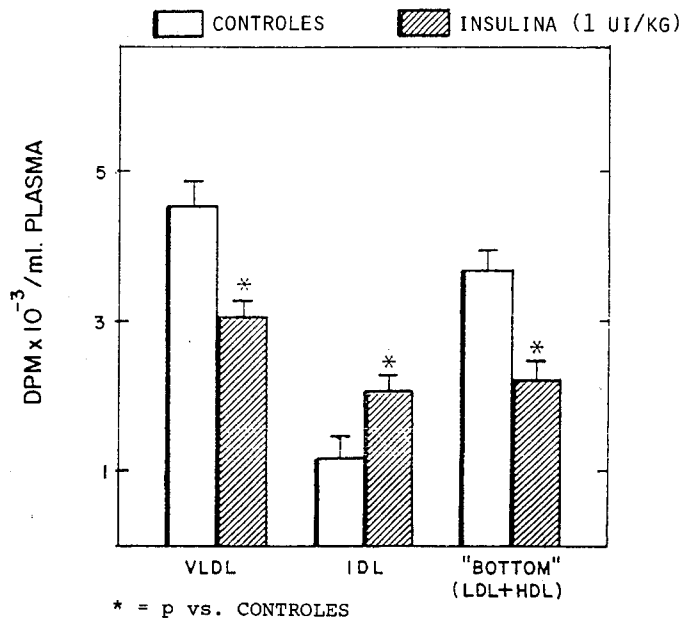


Figura 15: Efectos de la insulina (1 UI/Kg) sobre los lípidos-C14 asociados a las VLDL en plasma de ratas hepatectomizadas inyectadas con VLDL-C14. Datos procedentes de la ref. 38.

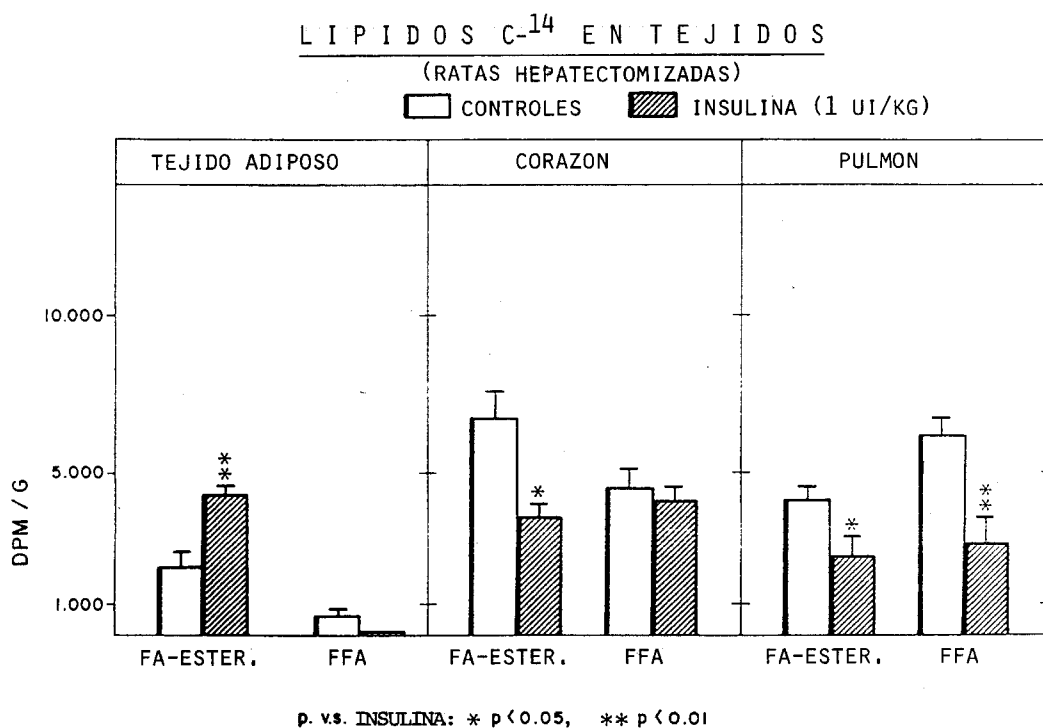


Figura 16: Efectos de la insulina (1 UI/Kg) en los lípidos-C14 en distintos tejidos de ratas hepatectomizadas inyectadas con VLDL-C14. Datos procedentes de la ref. 38.

tejido adiposo blanco eran bien conocidos, pero no se conocían sus efectos sobre la de esos otros tejidos en los que habíamos encontrado una reducción de la captación de los triglicéridos derivados de las VLDL, el corazón y el pulmón. Por ello, decidimos abordar directamente el tema mediante la infusión permanente de glucosa durante 3 días a la rata despierta, con el fin de producirle una mantenida hiperinsulinemia. Los datos obtenidos no han sido aún publicados, pero muestran que mientras que la insulina aumenta de forma intensa la actividad de la LPL en tejido adiposo, la inhibe en corazón y en pulmón.

No conocemos aún a través de qué mecanismos la insulina ejerce estos efectos contrapuestos, pero es evidente que ello supone una diferenciación sustancial en el metabolismo intrínseco de los glicéridos entre estos tejidos. De hecho, estos datos sobre la actividad LPL, junto a los anteriormente comentados sobre los efectos de la hormona modulando la utilización de glucosa y del glicerol, pueden interpretarse teniendo en cuenta también las respectivas necesidades energéticas de esos tejidos.

En la figura 17 se resumen de forma esquemática esas diferencias en el metabolismo del glicerol, la glucosa y las VLDLs entre el corazón y pulmón

con relación al tejido adiposo. En corazón y pulmón del animal adulto no hay acúmulo de triglicéridos de reserva, y las necesidades de α -glicerol-fosfato para la limitada síntesis de glicéridos que en ellos tiene lugar son satisfechas por el metabolismo de la glucosa. En ellos, la insulina estimula la utilización de esta glucosa hasta su oxidación completa a CO₂, para satisfacer las necesidades energéticas, mientras que inhibe la captación tanto de glicerol como de los ácidos grasos derivados de la hidrólisis de los triglicéridos que circulan en plasma asociados a las lipoproteínas ricas en ellos (VLDL y quilomicrones). En este último caso, la acción se ejerce por inhibición de la actividad de la LPL.

Por el efecto de la insulina en tejido adiposo (figura 17), ambos sustratos, la glucosa y el glicerol, son utilizados tanto para la síntesis de glicerol-1-fosfato como la de ácidos grasos. Estos se unen a su vez a los derivados de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, cuya hidrólisis y captación tisular hemos visto que son estimuladas por la acción de la insulina al activar a la LPL. Por consiguiente, con la conjunción de estos efectos, la insulina facilita la disponibilidad de suficiente esqueleto carbonado en forma de glicerol-1-fosfato, garantizando así la esterificación de todos esos ácidos grasos que sintetiza el tejido o que le llegan, para su acúmulo en forma de triglicéridos de reserva.

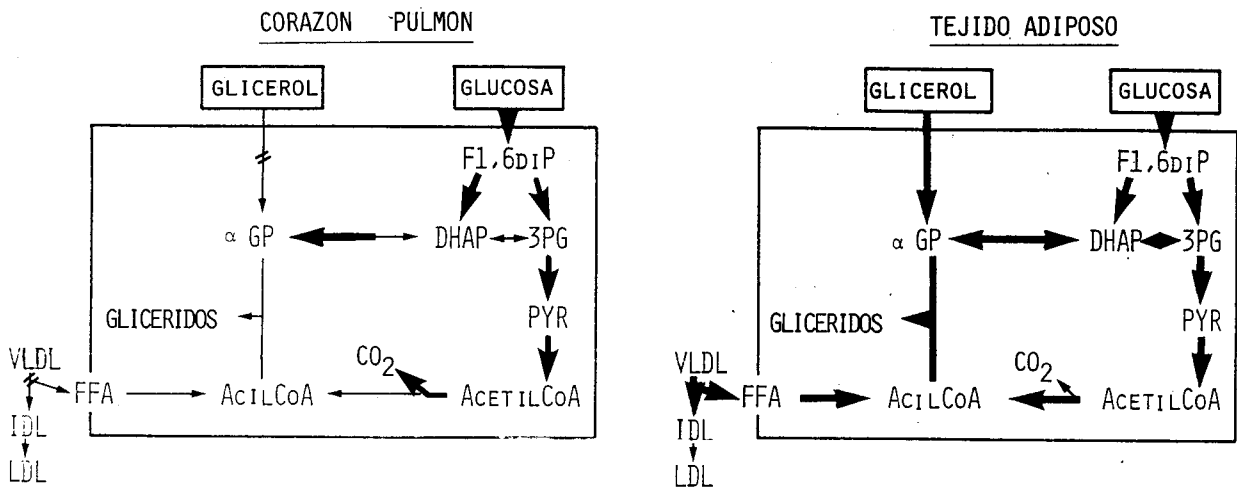


Figura 17: Esquema global de los efectos de la insulina sobre el metabolismo de glicerol, glucosa y VLDL en corazón, pulmón y tejido adiposo.

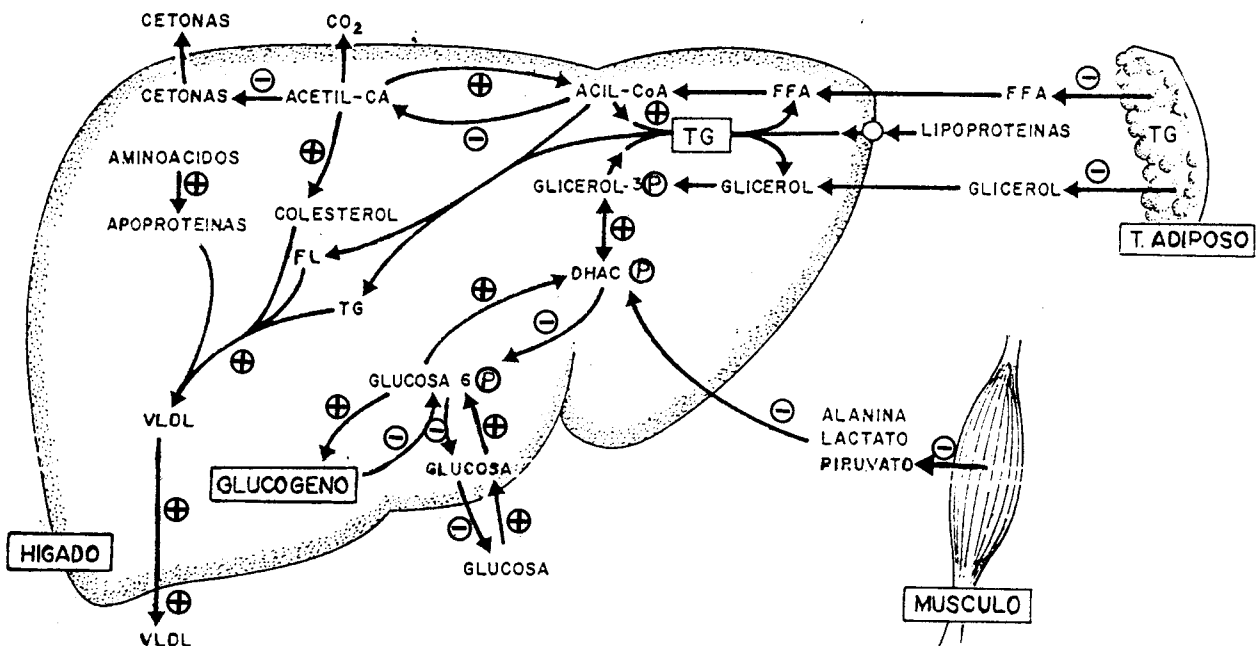


Figura 18: Esquema general de los principales efectos de la insulina sobre el metabolismo intermediario.

Consideraciones finales

De una forma global hemos visto que la insulina afecta a prácticamente todos los pasos de las interrelaciones metabólicas entre carbohidratos y lípidos. En la figura 18 presentamos un esquema global de la mayor parte de los efectos de la insulina aquí comentados. Hemos visto que algunos de estos efectos varían no sólo de un tejido a otro sino también en función de la situación nutritiva del animal. De hecho, hemos observado también que en algunos casos dichos

efectos resultan aparentemente contradictorios, pero la dilucidación del mecanismo por el que se producen ha permitido ampliar sustancialmente nuestro conocimiento de la forma en que esta hormona modula el metabolismo intermediario.

Por último, cabe indicar que a pesar de que el receptor de la insulina ha sido purificado y clonado, y de que conocemos numerosos aspectos de su funcionalidad, aún no llegamos a entender el mecanismo molecular de acción de la hormona, y estamos también lejos de comprender

la forma en que su respuesta metabólica es tan variable como la que aquí hemos analizado. Muchos de estos efectos metabólicos son secundarios a otras acciones más directas de la interacción entre la insulina y su receptor, pero resulta verdaderamente sorprendente que un mismo parámetro pueda responder a la misma hormona de una forma incluso opuesta en función del tejido de que se trate o de la situación nutritiva del animal. Esperemos que con el esfuerzo de todos, en un futuro no muy lejano lleguemos a dilucidar estas cuestiones pendientes.

Agradecimientos: Este estudio no podría haberse llevado a cabo sin la inestimable contribución de todos los que durante estos 22 años han colaborado en nuestro grupo de investigación. De entre ellos debo destacar aquellos que han participado de una forma directa en la realización de los experimentos aquí indicados, y concretamente los Dres. J. Argilés, R. Chieri, D. Gómez-Coronado, M.A. Lasunción, T. Mampel, A. Martín, P. Ramos, M. Soley y A. Zorzano. También deseo manifestar mi agradecimiento a las Srtas. A. Aguilar, M. Morante y M.A. Murua por su excelente ayuda técnica, y a las Srtas. G. Alfayate y C. Vial, por su inestimable labor administrativa. El trabajo ha sido llevado a cabo con ayudas de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, y Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social.

Bibliografía

1. *Wilson, J., Foster, D.* Introduction, en *Williams Textbook of Endocrinology*, 7th edition, J.D. Wilson y D.W. Foster, eds., W.B. Saunders Comp. Philadelphia, pgs. 1-8, 1985.
2. *Gómez-Coronado, D., Soley, M., Herrera, E.* Insulin effect on in vivo gluconeogenesis from 3-14C-pyruvate in the starved rat. *Int. J. Biochem.* 17, 1.307-1.311, 1985.
3. *Herrera, E., Zorzano, A.* Is the rat a proper model for studying human diabetogenic tendencies in pregnancy? en *Lessons from animal diabetes*, E. Shafrir y A.E. Renold, eds. John Libbey, London & Paris, pags. 699-704, 1984.
4. *Soley, M., Chieri, R., Herrera, E.* Short-term insulin infused through the portal vein enhances liver gluconeogenesis and glycogenesis from 3-14C-pyruvate in the starved rat. *Int. J. Biochem.* 17, 689-693, 1985.
5. *Soley, M., Chieri, R., Llobera, M., Herrera, E.* Glucose infused through the portal vein enhances liver gluconeogenesis and glycogenesis from 3-14C-pyruvate in the starved rat. *Int. J. Biochem.* 17, 685-688, 1985.
6. *Niewoehner, C.B., Gilboe, D.P., Nuttall, F.Q.* Metabolic effects of oral glucose in the liver of fasted rats. *Am. J. Physiol.* 246, E89-E94, 1984.
7. *Chieri, R., Soley, M., Llobera, M., Herrera, E.* Enhancing effect of insulin and glucose on liver gluconeogenesis. X Congress Int. Diab. Viena, Abst. 102, 1979.
8. *Thews, G.*, En "Physiologie des Menschen, *Schmidt, R.F.*, y *Thews, G.* eds., 20th ed. p. 543, Springer, Berlin, 1980.
9. *Wölfle, D., Schmidt, H., Jungermann, K.* Short-term modulation of glycogen metabolism, glycolysis and gluconeogenesis by physiological oxygen concentrations in hepatocyte cultures. *Eur. J. Biochem.* 135, 405, 1983.
10. *Katz, N., Jungermann, K.* Autoregulatory shift from fructolysis to gluconeogenesis in rat hepatocyte suspensions. The problem of metabolic zonation of liver paracnhyoma. *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 357, 359, 1976.
11. *Wölfle, D., Jungermann, K.* Long-term effects of physiological oxygen concentrations on glycolysis and gluconeogenesis in hepatocyte cultures. *Eur. J. Biochem.* 151, 299, 1985.
12. *Katz, J., Kuwajima, M., Foster, D.W., McGarry, J.D.* The glucose paradox: new perspectives on hepatic carbohydrate metabolism. *Trends Biochem. Scienc.* 11, 136-140, 1986.
13. *Herrera, E., Knopp, R.H., Freinkel, N.* Carohydrate metabolism in pregnancy. VI. Plassma fuels, insulin, liver composition, gluconeogenesis, and nitrogen metabolism during late gestation in the fed and fasted rat. *J. Clin. Invest.* 48, 2260-2272, 1969.
14. *Llobera, M., Herrera, E.* Effects of starvation on in vivo gluconeogenesis in hypo- and hyperthroid rats. *Endocrinology* 106, 1.628-1.633, 1980.
15. *Soley, M., Chieri, R., Herrera, E.* Liver glucose, glycogen and lipid synthesis in fed and 24-hour fasted rats soon after a pulse of 3-14C-pyruvate through the portal vein. *Int. J. Biochem.* 15, 45-49, 1983.
16. *Zorzano, A., Soley, M., Herrera, E.* Rapid effects of insulin and glucose on the hepatic incorporation of gluconeogenic substrates into glyceride glycerol and glycogen. *Intern. J. Biochem.* 21, 1.071-1.075, 1989.
17. *Herrera, E.* Metabolismo de los glicéridos en el tejido adiposo. *Investigación y Ciencia (Scientific American)* 4, 28-37, 1977.
18. *Belfrage, P., Donner, H., Eriksson, H., Stralfors, P.* Mechanisms for the control of lipolysis by insulin and pituitary growth hormone, en *Mechanisms of insulin action*, P. Belfrage, Donner, J. y P. Stralfors, eds., Elsevier, Amsterdam, pgs. 323-340, 1986.
19. *Knopp, R.H., Herrera, E., Freinkel, N.* Carbohydrate metabolism in pregnancy. VIII. Metabolism of adipose tissue isolated from fed and fasted pregnant rats during late gestation. *J. Clin. Invest.* 49, 1.438-1.446, 1970.
20. *Dominguez, M.C., Herrera, E.* Effects of 2-deoxy-D-glucose, oligomycin and theophylline on in vitro glycerol metabolism in rat adipose tissue: response to insulin and epinephrine. *Horm. metab. Res.* 8, 33-37, 1976.
21. *Dominguez, M.C., Herrera, E.* The effect of glucose, insulin and adrenalin on glycerol metabolism in vitro in rat adipose tissue. *Biochem. J.* 158, 183-190, 1976.
22. *Lasunción, M.A., González, C., Jolín, T., Herrera, E.* Effects of streptozotocin diabetes and insulin treatment on adipose tissue glucose utilization in the rat. *Arch. Intern. Physiol. Biochim.* 91, 247-254, 1983.
23. *Herrera, E., Lamas, L.* Utilization of glycerol by rat adipose tissue "in vitro". *Biochem. J.* 120, 433-434, 1970.
24. *Herrera, E., Ayanz, A.* Calculation of lipolysis and esterification from glycerol metabolism in rat adipose tissue. *J. Lipid Res.* 13, 802-809, 1972.

E. Herrera. Efectos metabólicos de la insulina.

25. *Khoo, J.C., Steinberg, D.* Hormone-sensitive lipase of adipose tissue. En *The Enzymes*, P.D. Boyer, ed., Academic Press, Nueva York, pgs. 183-204, 1983.
26. *Dominguez, M.C., Herrera, E.* Effect of epinephrine on the synthesis of glyceride glycerol in adipose tissue in vitro. *Rev. esp. Fisiol.* 31, 293-298, 1975.
27. *Seibel, M.J., Llobera, M., Herrera, E.* Effects of glucose, insulin and adrenaline on glycerol metabolism in adipose tissue from hypothyroid rats. *Mol. Cell. Endocrinol.* 10, 307-318, 1978.
28. *Herrera, E.* Effect of albumin on glycerol metabolism in rat adipose tissue. *Rev. esp. Fisiol.* 29, 155-162, 1973.
29. *Herrera, E., Domingez, M.C.* Modulación del metabolismo del glicerol en tejido adiposo, en *Avances de la bioquímica*, L. Connudella, J. Oró, A. Sols, C.F. Heredia, eds. Ed. Salvat, Barcelona, pgs. 237-244, 1977.
30. *Dominguez, M.C., Herrera, E.* Effects of glycerol and glucose on the kinetics of glycerol utilization by adipose tissue in the rat. *Rev. Esp. Fisiol.* 32, 293-300, 1976.
31. *Hagen, J.H., Moorhouse, J.A., Steinberg, J.* Effect of insulin on plasma glycerol in man. *Metabolism* 12, 346-351, 1963.
32. *Mueller, P.S., Evans, W.H.* Responses of plasma glycerol concentrations to epinephrine, norepinephrine, glucose, insulin, and prolonged fasting in man. *J. Lab. Clin. Med.* 61, 953-961, 1963.
33. *Mampel, T., Palacin, M., Herrera, E.* Contraposed effects of insulin on extrahepatic glycerol utilization. *Acta Endocrinol. Suppl.* 243, abst. 473, 1981.
34. *Mampel, T., Camprodón, R., Solsona, J., Juncá, V., Herrera, E.* Changes in circulating glycerol, free fatty acids and glucose levels following liver transplant in the pig. *Arch. Intern. Physiol. Biochim.* 89, 195-199, 1981.
35. *Chaves, J.M., Herrera, E.* In vivo glycerol metabolism in the pregnant rat. *Biol. Neonate* 37, 172-179, 1980.
36. *Carmaniu, S., Herrera, E.* Extra-hepatic utilization of 14C-glucose and 14C-glycerol in the eviscerated rat. *Diabete & Metab.* 6, 239-244, 1980.
37. *Mampel, T., Herrera, E.* Effects of insulin on the utilization of 14C-glycerol and 14C-glucose in hepatectomized nephrectomized rats. *Diabete & Metab.* 11, 118-124, 1985.
38. *Argilés, J., Herrera, E.* Effects of insulin on the disposal of 14C-labelled very low density lipoprotein triglycerides in intact and hepatectomized rats. *Diabetologia* 24, 300-303, 1983.
39. *Flier, J.S., Underhill, L.H., Eckel, R.H.* Lipoprotein lipase, a multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *New Eng. J. Med.* 320, 1.060-1.068, 1989.
40. *Ramírez, I., Llobera, M., Herrera, E.* Circulating triacylglycerols, lipoproteins and tissue lipoprotein lipase activities in rat mothers and offspring during the perinatal periods: effect of postmaturity. *Metabolism* 32, 333-341, 1983.
41. *Grimberg, D.R., Ramírez, I., Vilaró, S., Reina, M., Llobera, M., Herrera, E.* Starvation enhances lipoprotein lipase activity in the liver of the new born rat. *Biochem. Biophys. Acta* 833, 217-222, 1985.
42. *Herrera, E., Lasunción, M.A., Gómez-Coronado, D., Aranda, P., López-Luna, P., Maier, I.* Role of lipoprotein lipase activity on lipoprotein metabolism and the fate of circulating triglycerides in pregnancy. *Amer. J. Obstetr. Gynecol.* 158, 1.575-1.583, 1980.