

EFECTES COMPARATIUS DE LA INSULINA SOBRE EL METABOLISME DE LA GLUCOSA I EL GLICEROL EN TEIXITS EXTRAHEPÀTICS

T. MAMPEL, E. HERRERA

ANTECEDENTS I PLANTEIG EXPERIMENTAL. — Els dos substrats que ens interessin, la glucosa i el glicerol, formen part indistintament dels metabolismes hidrocarburat i lipídic. La glucosa, que és el monosacàrid fisiològic per excel·lència, pot ser utilitzada tant pel fetge com pels teixits extrahepàtics (preferentment el teixit adipós) com a substrat per a la síntesi d'àcids grassos (Acil CoA, forma activa dels àcids grassos) i del α -glicerofosfat. El glicerol, mitjançant una fosforilació directa, passa a α -glicero fosfat,¹ que pot ser transformat també en Acil CoA o bé incorporar-se a la gluconeogènesi per a la síntesi de glucosa-6-fosfat. A la vegada, l'esterificació del α -glicero fosfat amb els Acil CoA permet la síntesi de triglicèrids. Quan això té lloc en el fetge, aquests triglicèrids surten a la sang amb altres lípids i proteïnes, són les denominades lipoproteïnes. Els teixits extrahepàtics utilitzen aquestes lipoproteïnes degradant-les prèviament, alliberant-se àcids grassos lliures i glicerol, que són metabolitzats en el propi teixit, o bé tornen a la sang per a ésser captats per altres teixits.

En aquest continu reciclatge de metabòlits relacionats amb la glucosa i el glicerol, el fetge té un paper molt actiu. Així doncs, en el nostre laboratori s'ha demostrat recentment² que a un minut de la injecció intravenosa de glicerol-C¹⁴ a la rata, més del 60 % del traçador ha desaparegut de la sang, es metabolitza en el fetge, es transforma en glucosa i lípids radioactius.

En aquest treball hem estudiat els efectes de la insulina sobre la metabolització perifèrica de la glucosa i del glicerol. Com que el fetge transforma ràpidament aquests metabòlits, hem utilitzat l'hepatectomia amb el propòsit d'evitar aquesta transformació i així poder establir els efectes de l'hormona sobre l'utilització dels esmentats metabòlits pels teixits extrahepàtics. El tema despertava especial interès, doncs encara que els efectes de la insulina sobre la metabolització de la glucosa són

ben coneguts (per revisió sobre el tema veure ref. 3), els seus efectes sobre la del glicerol no estan ben establerts en situacions *in vivo*. Ja que sembla ser que la insulina *in vivo* no altera la utilització de glicerol pels teixits.⁴ Això passat, malgrat que és conegut l'efecte antilipolític d'aquesta hormona,^{5,6} que produirà una disminució de la hidròlisi dels triglicèrids en el teixit adipós i com a conseqüència tindrem una menor alliberació de glicerol pel teixit. També *in vitro* s'ha demostrat que la insulina activa la metabolització del glicerol i la glucosa pel teixit adipós, tant per la síntesi d'àcids grassos (lipogènesi),⁷ com per la formació de α -glicero fosfat.⁸

Podria ser que, al menys en part, aquests efectes es trobessin compensats *in vivo* per la participació del metabolisme hepàtic, emmascarant així els efectes de l'hormona sobre aquests paràmetres en els teixits perifèrics.

PROTOCOL EXPERIMENTAL I METODOLOGIA. — Rates femelles adultes de la raça Wistar foren hepatectomitzades pel mètode de Russell,⁹ que consistí en lligar els dos vasos que alimenten al fetge, el tronc celíac i la vena porta. A fi de garantir la completa ablació del fetge, es lligaren els dos lòbuls principals, el del mig i el lateral esquerre.¹⁰ A continuació es lligaren els vasos renals, evitant així la circulació pels ronyons.

Al cap de 5 minuts d'haver realitzat l'hepatectomia, s'els va administrar a la meita dels animals una dosi única d'insulina (1 U/Kg.) disolta en albúmina-salí, per la vena femoral. A l'altra meitat d'animals s'els donà el mateix volum d'albúmina-salí (grup control). Cinc minuts després vàrem injectar als dos grups per la vena cava, quantitats traça de glicerol-U-C¹⁴ o glucosa-U-C¹⁴ (1.10⁶d.p.b./animal). Al cap de 5, 10 i 15 minuts de la injecció del traçador, s'els va extreure sang per la vena cava.

Vàrem realitzar una precipitació neutra de proteïnes d'aquestes mostres de sang mitjançant la tècnica de Somogyi¹¹ i vàrem valorar glucosa¹² i glicerol¹³ per mètodes enzimàtics.

Als 15 minuts es van sacrificar els animals per obtenir els diferents teixits per l'ordre ací establert (T. adipós blanc, ronyó, melsa, fetge, cor, pulmó, múscul i t. adipós marró) es van extreure els lípids d'aquests teixits pel mètode de Folch¹⁴ i aquests es van fraccionar per separació de fases.¹⁵ Es determinà la radioactivitat de les diferents fraccions lipídiques, utilitzant un comptador proveït d'un patró extern, per corregir el «quenching». Les dades s'expressaren en funció de la radioactivitat administrada a cada animal (que va ésser la mateixa pels dos substrats) i com a percentatge de la resposta a la insulina en relació amb els controls, tractats amb el medi. L'estadística de les dades es va realitzar aplicant el mètode del test de la «t» de Student.

RESULTATS I DISCUSSIÓ. — En la figura 1 es representen els nivells plasmàtics de glucosa i glicerol en rates hepatectomitzades i nefrectomitzades als 15 minuts de l'administració del traçador. Com esperàvem, la insulina produí un intens descens dels nivells circulants de glucosa, que correspon al conegut efecte d'aquesta hormona, estimulant la captació i metabolització d'aquest metabòlit pels teixits extrahepàtics.¹⁶

-Figura 1

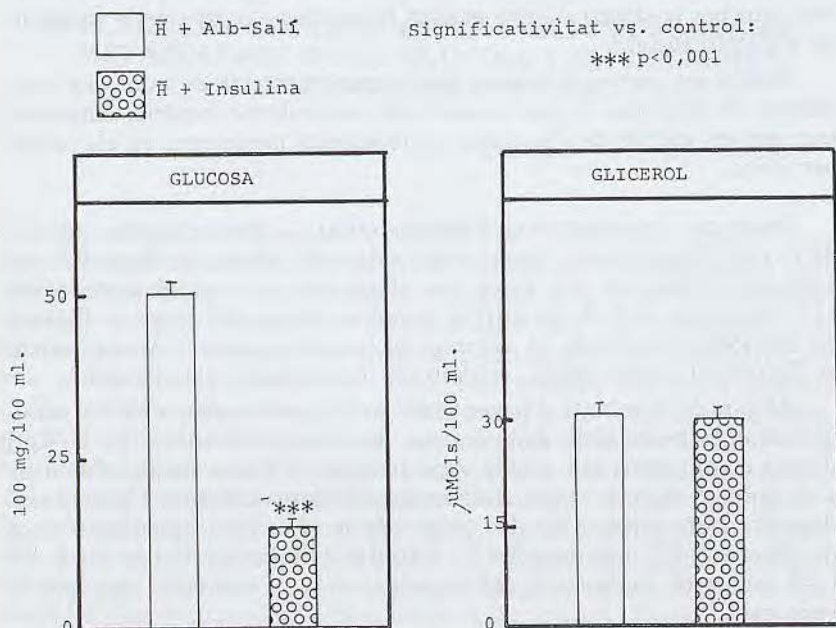


Fig. 1. — Efecte de la insulina sobre els nivells circulants de glucosa i glicerol en rates hepatectomitzades.

La concentració d'insulina administrada és de 1 U/Kg.. Les dades que representem corresponen als 15 minuts d'injectar el traçador. Les barres representen el valor mitjà \pm l'error estàndard dels animals de cada grup.

Els nivells de glicerol, no obstant, no canvien amb l'administració d'insulina i això concorda amb la dificultat que tenien d'altres autors en aconseguir un efecte de l'hormona sobre aquest paràmetre en animals intactes.¹⁷ Aquestes dades ens fan concloure que, a diferència del que succeeix amb la glucosa, la insulina no altera el metabolisme del glicerol en situacions *in vivo*:

Amb la finalitat de determinar si aquesta possibilitat era la correcta, es va administrar a la meitat dels animals glucosa-U-C¹⁴ i a l'altre meitat glicerol-U-C¹⁴, com ja hem dit anteriorment.

Com s'observa en la figura 2, l'administració d'insulina va produir una intensa estimulació en la incorporació de radioactivitat a lípids del teixit adipós marró, tant a partir de glucosa com de glicerol radioactius. Encara que, aparentment, en la figura 2 l'efecte de la hormona sobre la utilització de la glucosa-U-C¹⁴ sembla ser més intens que sobre la del glicerol-U-C¹⁴, aquest no és el cas, donat que:

-Figura 2

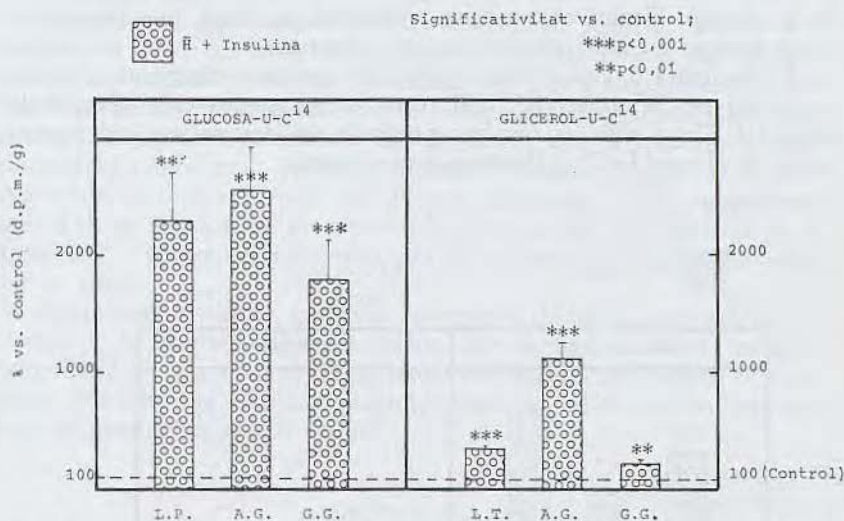


FIG. 2. — Resposta perceptual a la insulina en la incorporació de glucosa o glicerol-U-C¹⁴ a lípids del teixit adipós marró de rates hepatectomitzades.

Les barres representen el valor mitjà expressat en % respecte els controls \pm l'error estàndard dels lípids totals (L. T.), dels àcids grassos (A. G.) i del glicerol de glicèrids (G. C.), del grup tractat amb insulina, mentre que la ratlla discontinua és el valor 100 que s'els hi dona als controls. No podem representar l'error ja que no es diferenciaria en la gràfica.

a) La radioactivitat basal en lípids totals dels animals controls (100 % en la figura) és molt superior en els animals injectats amb glicerol (3.391 ± 289 d.p.m./g. teixit), que en els de glucosa (120 ± 15 d.p.m./g. teixit). És a dir, en quant a canvi absolut de d.p.m./g., l'augment total de radioactivitat en els animals tractats amb glicerol és molt superior que amb glucosa, després de l'administració d'insulina.

b) L'activitat específica de cadascun dels traçadors varia de manera diferent en els dos grups experimentals, després de l'administració d'insulina. Així doncs, l'hormona produeix una intensa disminució de la glucèmia, l'activitat específica de la glucosa-C¹⁴ augmenta molt en els animals tractats amb insulina en relació als controls, d'altra banda, l'activitat específica del glicerol-C¹⁴ és la mateixa en les rates amb i

sense insulina, ja que no variaven els nivells de glicerol en sang. Així doncs, si les dades es poguessin corregir per aquest canvi d'activitat específica, resultaria que el veritable efecte de la insulina sobre la utilització del glicerol seria més gran, mentre sobre la glucosa ens apareixeria disminuït.

No tots els teixits estudiats responen de la mateixa manera a l'administració d'insulina, com el teixit adipós marró en el metabolisme del glicerol, mentre que en tots s'observa un augment de la metabolització de la glucosa. Tenim el cor, que representa un teixit que respon de forma inversa en allò referent als dos substrats.

En la figura 3 veiem com la insulina continua estimulando l'ús de la glucosa per la síntesi de lípids (tant àcids grassos com glicerol de glicèrids). Tot i això, la insulina produeix un descens en la transformació de glicerol-U-C¹⁴ a lípids en aquest teixit.

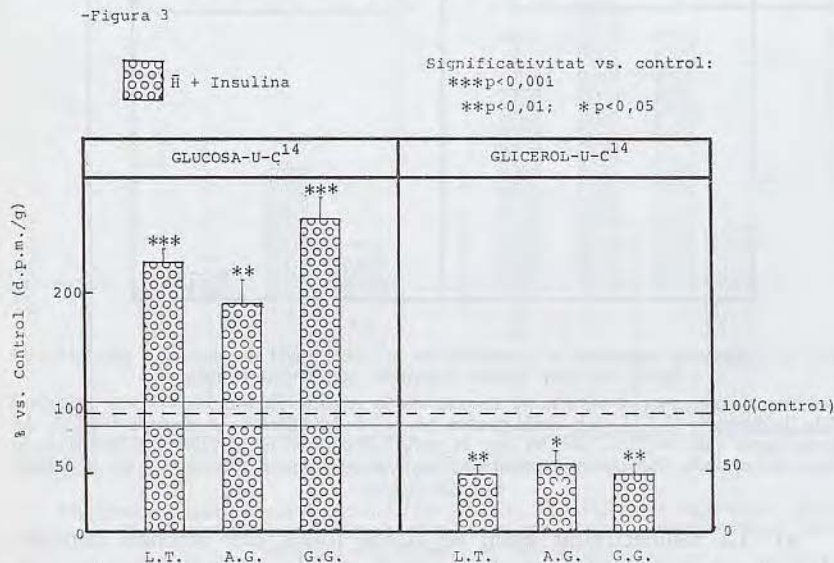


Fig. 3. — Resposta percentual en la insulina en la incorporació de glucosa o glicerol-U-C¹⁴ a lípids del cor de rates hepatectomitzades.

Les barres representen el valor mitjà del % respecte els controls \pm l'error estàndard dels lípids totals (L. T.), dels àcids grassos (A. G.) i del glicerol (G. G.) del grup tractat amb insulina, mentre que la ratlla discontinua representa el 100 dels controls i l'espai blanc que la delimita és l'error, que és igual en tots els casos.

En aquest treball no ens és possible determinar de manera absoluta els efectes comparatius de la insulina sobre els dos substrats (glucosa i glicerol) en teixits extrahepàtics, degut a la gran diferència que hi ha

en la velocitat de recanvi («turnover») d'ambdós substrats *in vivo*.^{18, 19} Tot i això, les dades que ací presentem ens permeten comprendre el perquè, malgrat els seus efectes sobre la glucosa, la insulina no afecta els nivells circulants de glicerol. Això no és conseqüència d'una falta d'efecte de l'hormona sobre el metabolisme del glicerol en els teixits extrahepàtics, ans és el resultat d'uns efectes contraposats en els diferents teixits, els quals poden ser compensats, aconseguint-se que els nivells de glicerol en plasma no variïn.

El motiu pel que aquests teixits responen de manera diferent a la insulina en quant als seus efectes sobre la utilització del glicerol com a substrat lipogenètic, no pot ser definit ací. Tot i això, el fet de que l'activitat de l'enzim que catalitza la fosforilació del glicerol sigui molt diferent en els distints teixits,²⁰ ens fa pensar que la resposta a l'hormona sigui també molt variable. Al mateix temps, l'efecte de la insulina sobre la metabolització del glicerol dependrà de la competitivitat amb d'altres substrats, i en especial la glucosa, per ser utilitzats en la lipogènesi, i aquesta competitivitat pot ser diferent en funció del teixit que es tracti.

Actualment nosaltres intentem determinar de forma comparativa els efectes de la insulina sobre els enzims que controlen, tant el metabolisme de la glucosa com el del glicerol, en els diferents teixits extrahepàtics. Pensem que això ens ajudarà a explicar millor els resultats que hem aconseguit en aquest treball.

BIBLIOGRAFIA

1. ROBINSON, J., NEWSHOLME, E. A.: *Biochem. J.*, 104, 2c, 1967.
2. CARMANIU, S.: Tesi Doctoral, Univ. Barcelona, 1978.
3. PILKINS, S. J., PARK, C. R.: *Ann. Rev. Pharmacol.*, 365, 1974.
4. FREUD, G.: *Arch. Intern. Med.*, 121, 123, 1968.
5. HAVEL, R. J.: *Ann. New York, Acad. Sci.*, 131, 91, 1965.
6. JUNGAS, R. J., BALE, E. G.: *Biochemistry*, 2, 383, 1963.
7. DOMÍNGUEZ, M. C., HERRERA, E.: *Biochem. J.*, 153, 183, 1976.
8. HERRERA, E., LAMAS, L.: *Biochem. J.*, 120, 433, 1970.
9. RUSSELL, J. A.: *Am. J. Physiol.*, 136, 95, 1941.
10. HIGGINS, G. M., ANDERSON, R. M.: *Arch. Pathol.*, 12, 186, 1931.
11. SOMOGYI, M.: *J. Biol. Chem.*, 160, 69, 1945.
12. HUGGET, A. S. C., NIXON, D. A.: *The Lancet*, 2, 358, 1957.
13. GARLAND, P. B., RANDLE, P.: *Nature*, 196, 987, 1962.
14. FOLCH, J., LEEDS, M., SLOONE-STANLEY, G. H.: *J. Biol. Chem.*, 266, 495, 1961.
15. KERPEL, S., SHAFRIR, E., SHAPIRO, B.: *B. B. A.*, 46, 495, 1961.
16. NEWSHOLME, E. A.: *J. Molec. Med.*, 2, 204, 1977.
17. GREEN, A., NEWSHOLME, E. A.: *Biochem. J.*, 180, 2, 365, 1979.
18. CARMANIU, S., HERRERA, E.: *Arch. Intl. Physiol. Biochem.*, en premsa.
19. GILBERT, M., RICQUER, D.: *Biol. Neonate*, 31, 36, 1977.
20. KOSCHINSKY, T. H., GRIES, F. A., HERBERG, L.: *Diabetologia*, 7, 316, 1971.

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