

EFFECTE DE LA INSULINA EN EL METABOLISME DEL GLICEROL «IN VIVO» EN LA RATA

Comunicació presentada el dia 31 de gener de 1978
a les I Jornades d'Endocrinologia de la S.C.B.

per

SALVADOR CARMANIU i EMILIO HERRERA

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

Aquest treball s'ha realitzat, en part, mitjançant un ajut
de la «Comisión Asesora para la Investigación Científica y Técnica».
Presidencia del Gobierno.

INTRODUCCIÓ

La utilització del glicerol per qualsevol teixit depèn d'un enzim, la gliceroquinasa, que catalitza la seva fosforilació a α -glicerofosfat, que depèn de l'ATP. Aquest enzim s'ha trobat en diversos teixits (fetge, cor, teixit adipós), els quals són potencialment capaços de metabolitzar el glicerol (BUBLITZ i KENNEDY¹, ROBINSON i NEWSHOLME²).

Estudis previs *in vitro* realitzats en el nostre laboratori (HERRERA i LAMAS³) demostraven que un 75 % del glicerol-1-C¹⁴ del medi d'incubació que era captat pel teixit adipós, es convertia a C¹⁴O₂ i a lípids-C¹⁴ s'aïllava la major part d'aquests com a glicerol de glicèrids.

Aquesta metabolització del glicerol *in vitro* era regulada per diferents factors hormonals i nutricionals. Així, en presència de glucosa, l'epinefrina redueix la captació de glicerol pel teixit adipós i també la seva conversió a glicerol de glicèrids (DOMÍNGUEZ i HERRERA⁴), mentre que la insulina, administrada sola o juntament amb l'epinefrina, activa la captació del glicerol i el seu pas a àcids grassos i a CO₂, i la lipogènesi depèn de la presència de glucosa en el medi (KOSCHINSKY *et al.*⁵; DOMÍNGUEZ i HERRERA⁶).

A partir del quadre metabòlic *in vitro* i del conegut efecte lipogenètic de la insulina, s'intenta aclarir amb el present estudi la utilització del glicerol pels teixits de la rata *in vivo*, especialment quant a la incorporació a lípids, i l'efecte de la insulina sobre aquests paràmetres, en presència i en absència de glucosa.

MATERIALS I MÈTODES

Rates femelles verges de la soca Wistar, alimentades *ad libitum*, de 168 ± 1 g de pes corporal, foren injectades amb $15 \mu\text{Ci}$ /rata de glicerol-U-C¹⁴ (The Radiochemical Center. Amersham), equivalents a 10^6 dpm, per via intravenosa.

Es prengueren mostres de sang als 10, 20 i 30 min. després de l'administració del traçador, i s'aïllaren les VLDL (lipoproteïnes de molt baixa densitat) en ultracentrifuga⁷. Els animals foren sacrificats per decapitació als 30 min., i es recolliren els teixits que juntament amb el plasma foren processats per a analitzar i purificar els lípids, segons el mètode de FOLCH *et al.*⁸, i fraccionar-los en àcids grassos lliures, àcids grassos esterificats i glicerol de glicèrids.

S'establiren tres grups experimentals de 5 rates com a mínim per grup. Un grup d'animals fou tractat amb una dosi única de 0,1 U.I. d'insulina/200 g de pes corporal, per injecció intraperitoneal, i amb 0,4 g de glucosa/200 g p.c. per mitjà d'una sonda gàstrica (grup I+G). Un altre grup de rates fou injectat amb 0,1 U.I. d'insulina/200 g p.c., i la glucosa oral fou substituïda per l'administració d'aigua per sonda gàstrica (grup I). Finalment, el grup control (C) va rebre una injecció intraperitoneal de salí (ClNa 0,9 %) i tractament oral amb aigua, en substitució de la insulina i la glucosa, respectivament. Al cap de 30 min. d'aquest tractament, cada animal fou injectat amb glicerol-U-C¹⁴ com ja s'ha esmentat.

La hipoglucèmia del grup I (HUGGET i NIXON⁹), deguda a la insulina injectada, es restablí 30 min. després, en el moment en què s'injectà el glicerol marcat. (Taula 1.) Les dosis de glucosa i d'insulina administrades al grup I+G permetien d'assolir una normoglucèmia per compensació durant tot el període previ a la injecció del traçador. La insulinèmia, determinada per ràdioimmunoassaig¹⁰, en ambdós grups experimentals fou, en canvi, significativament superior a la del grup control (taula 1).

TAULA I.—Nivells plasmàtics de glucosa i d'insulina als diferents grups experimentals en el moment d'injectar glicerol-U-C¹⁴

| | Grups experimentals | | | |
|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|-----|
| | C | I | I+G | |
| Glucosa (mg/100 ml) | 118±4,27 | 107±4,23 N.S. | 108±6,99 N.S. | (a) |
| Insulina (U/ml) | 30,2±4,09 | 61,8±5,32 p<0,001 | 54,4±4,56 p<0,01 | (a) |

Valors expressats: mitjana±error estàndard de la mitjana (a) P vs. C.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

El glicerol-C¹⁴ injectat desaparegué ràpidament de la circulació, car als 10 min. només es trobà un 10 % de la radioactivitat injectada/ml de plasma en els tres grups experimentals (fig. 1a).

Durant el temps d'observació (10, 20 i 30 min.), la radioactivitat en el plasma fou progressivament menor a partir del percentatge esmentat. Això indica que el traçador fou captat pels teixits de la rata, i d'una manera especial pel fetge, on es recupera un 5,1±0,67 % del C¹⁴ als 30 min. de la injecció del glicerol marcat. No aparegueren diferències entre les rates tractades amb I o I+G i els seus controls (fig. 1a).

Al mateix temps que es produïa la captació massiva del glicerol circulant, s'observava un augment progressiu, encara que d'ordre inferior a la desaparició, de la radioactivitat plasmàtica en forma de lípids-C¹⁴ (fig. 1b). Part del glicerol-C¹⁴ captat pel fetge s'utilitzà com a substrat per a la síntesi de lípids, els quals serien parcialment segregats altra vegada al torrent circulatori, sobretot com VLDL ¹¹.

No s'apreciaren diferències significatives a causa de l'administració de petites dosis de glucosa i/o insulina quant a la utilització de glicerol-C¹⁴ per a la síntesi de lípids totals circulants (figs. 1b i 2). Malgrat això, s'observà en el grup I+G un augment del percentatge de glicerol-C¹⁴ convertit en àcids grassos esterificats de VLDL, el qual és contrarestat amb una disminució de la quantitat de glicerol emprada per a la síntesi de glicerol de glicèrids (fig. 2).

La radioactivitat en lípids totals i en les diverses fraccions lipídiques del fetge a partir de glicerol-C¹⁴ no és afectada pel tractament descrit amb insulina o insulina més glucosa (fig. 3).

RADIOACTIVITAT DEL PLASMA DESPRÉS D'INJECTAR GLICEROL-U-C¹⁴

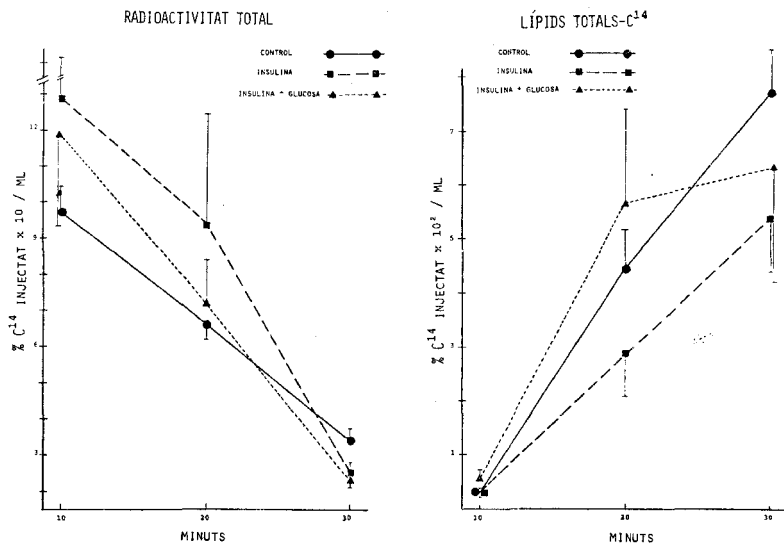


FIG. 1.

EFFECTE DE LA INSULINA I LA GLUCOSA SOBRE LA INCORPORACIÓ DE GLICEROL A LÍPIDS DE VLDL

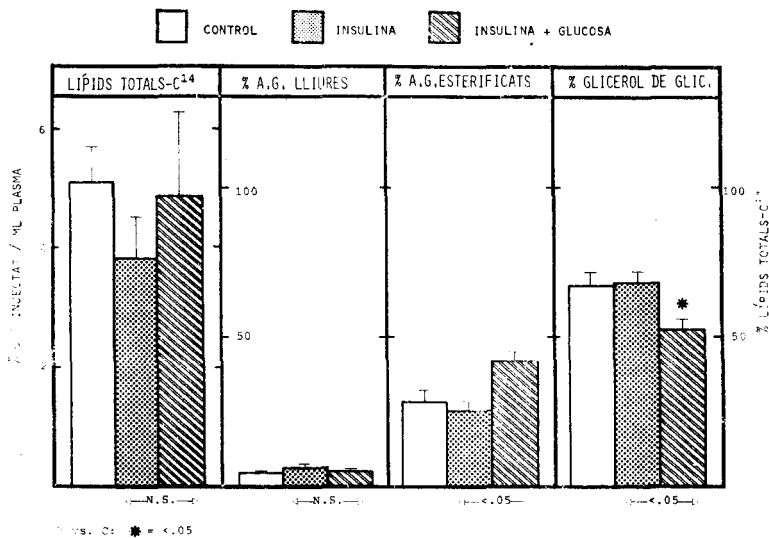


FIG. 2.

En el múscul cardíac, en canvi, s'observà una disminució significativa en els lípids-C¹⁴ totals en el grup *I* respecte al *C* (fig. 4), la qual disminució correspon a uns nivells de radioactivitat disminuïts en la fracció de glicerol de glicèrids. En aquest teixit apareix, no obstant això, un augment significatiu de la radioactivitat en els àcids grassos lliures del grup *I+G* respecte a *C* i a *I*.

Convé fer notar que donades les disponibilitats de glucosa, la conversió del substrat radioactiu a glucosa radioactiva i els efectes diferents de la insulina sobre les captacions i metabolismes de la glucosa i del glicerol, és difícil atribuir les diferències trobades en el cor a accions directes de l'hormona sobre la utilització del glicerol.

L'efecte de l'administració de la insulina s'observa especialment en els lípids-C¹⁴ aïllats en el teixit adipós (fig. 5). La comparació quantitativa de les fraccions lipídiques originades a partir de glicerol-C¹⁴ en els teixits de la rata, en condicions basals, ja defineix el teixit adipós com el teixit amb més capacitat per a la lipogènesi i l'esterificació dels àcids grassos, car aquest és l'únic teixit en el qual la fracció d'àcids grassos (sobre tot els esterificats) supera la de glicerol de glicèrids. En tots els altres òrgans examinats és justament el glicerol de glicèrids la fracció lipídica majoritària.

Aquesta capacitat metabòlica del teixit adipós per al glicerol, en contrast amb el fetge i el cor, és potenciada encara en el grup tractat amb

EFECTE DE LA INSULINA I LA GLUCOSA SOBRE LA INCORPORACIÓ DE GLICEROL A LÍPIDS DE FETGE

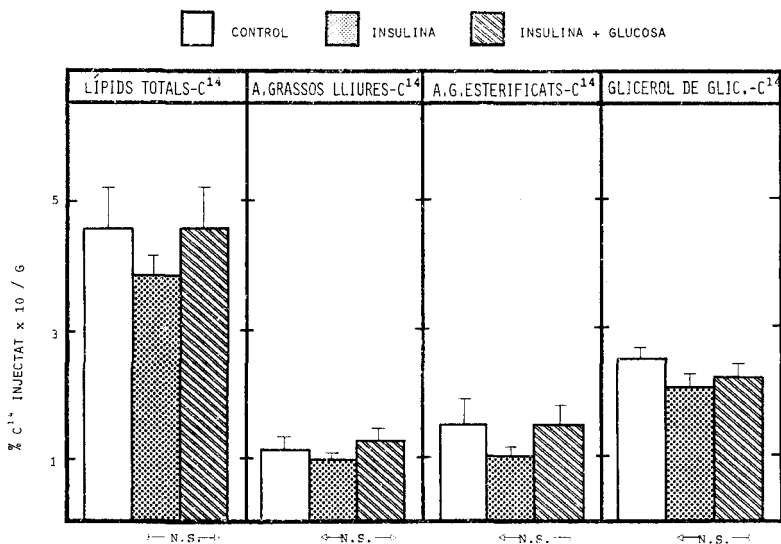


FIG. 3.

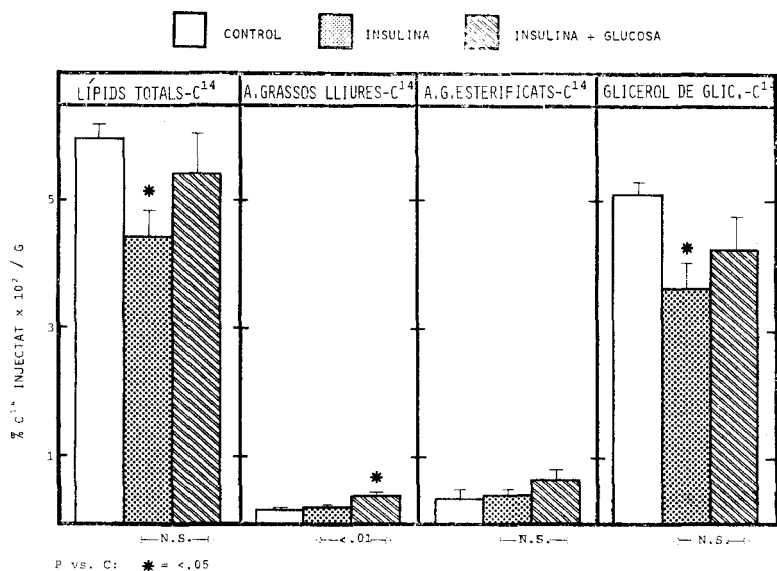


FIG. 4. — Efecte de la insulina i la glucosa sobre la incorporació de glicerol a lípids de miocardi.

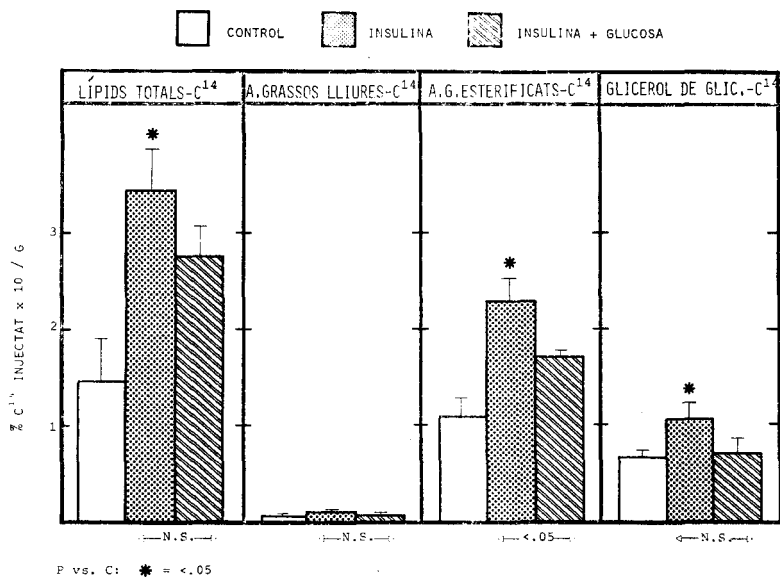


FIG. 5. — Efecte de la insulina i la glucosa sobre la incorporació de glicerol a lípids de t. adipós

insulina ja que tant els lípids-C¹⁴ totals com els corresponents a àcids grassos esterificats i a glicerol de glicèrids es troben augmentats significativament respecte als controls (fig. 5). El grup I+G presenta també uns nivells de lípids marcats més elevats que els controls, però no significatius.

No cal sorprendre's d'aquest efecte de la glucosa en el grup I+G inhibint l'acció lipogenètica de la insulina a partir de glicerol, car aquesta hormona és altament sensible a la metabolització de la glucosa, i un augment en l'assequibilitat d'aquest metabòlit pot portar com a conseqüència una competició amb el glicerol per a ser emprat com a substrat en la síntesi d'àcids grassos i de glicerol de glicèrids.

Podem concloure, per tant, que les dades obtingudes en aquests experiments *in vivo* concorden amb les observacions prèvies realitzades en incubacions del teixit adipós *in vitro* en el sentit d'una incorporació del glicerol a àcids grassos, la qual és potenciada per acció de la insulina (DOMÍNGUEZ i HERRERA⁶). No obstant això, en l'animal *in vivo*, una considerable proporció dels àcids grassos sintetitzats en el teixit adipós han de procedir no directament del glicerol, sinó de la glucosa, donat que és prou coneguda la ràpida utilització del glicerol com a bon substrat gluconeogenètic per part del fetge i del còrtex renal¹².

BIBLIOGRAFIA

1. BUBLITZ, C. i KENNEDY, E. P. — *The enzymatic phosphorylation of glycerol*. «J. Biol. Chem.», 211: 951 (1954).
2. ROBINSON, J. i NEWSHOLME, E. A. — *Glycerol kinase activities in rat heart and adipose tissue*. «Biochem. J.», 104: 2c (1967).
3. HERRERA, E. i LAMAS, L. — *Utilization of glycerol by rat adipose tissue in vitro*. «Biochem. J.», 120: 433 (1970).
4. DOMÍNGUEZ, M. C. i HERRERA, E. — *Effect of epinephrine on the synthesis of glyceride glycerol in adipose tissue in vitro*. «Rev. Esp. Fisiol.», 31: 293 (1975).
5. KOSCHINSKY, T., GRIES, F. A. i HERBERG, L. — *Regulation of glycerol kinase by insulin in isolated fat cells and liver of Bar Harbor obese mice*. «Diabetologia», 7: 316 (1971).
6. DOMÍNGUEZ, M. C. i HERRERA, E. — *The effect of glucose, insulin and adrenaline on glycerol metabolism in vitro in rat adipose tissue*. «Biochem. J.» 158: 183 (1976).
7. *Lipid Research Clinic Program*. Vol. I. *Lipid and Lipoprotein Analysis*. «Natl. Inst. Health. Bethesda» (1974).
8. FOLCH I PI, J., LEES, M. i SLOANE STANLEY, G. H. — *A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues*. «J. Biol. Chem.», 266: 497 (1957).
9. HUGGET, A. S. G. i NIXON, D. A. — *Use of glucose oxidase, peroxidase and o-dianisidine in determination of blood and urinary glucose*. «The Lancet», 2: 358 (1957).
10. HALES, C. N. i RANDLE, P. J. — *Immunoassay of insulin with insulin-antibody precipitate*. «Biochem. J.», 88: 137 (1963).
11. WINDMUELLER, H. G. i LEVY, R. I. — *Total inhibition of hepatic β -lipoprotein production in the rat by orotic acid*. «J. Biol. Chem.», 242: 2246 (1967).
12. GIDEZ, L. I. i KARNOVSKY, M. L. — *The metabolism of ¹⁴C-glycerol in the intact rat*. «J. Biol. Chem.», 206: 229 (1954).