

Fisiopatología del tejido adiposo blanco

E. Herrera Castellón; M. A. Lasunción

INTRODUCCIÓN

Las grasas, y en particular los triglicéridos, constituyen la forma más eficaz de acumular energía para nuestro organismo. A diferencia de carbohidratos y proteínas, los átomos de carbono de los ácidos grasos que esterifican al glicerol en la molécula de los triglicéridos están saturados únicamente por átomos de hidrógeno, mientras que los carbohidratos, y en menor medida los aminoácidos de las proteínas, lo están con grupos hidroxilos además de hidrógenos.

Esta diferencia estructural justifica el que, expresados por átomo de carbono, los triglicéridos sean más oxidables que carbohidratos y proteínas. Ello supone que mientras los triglicéridos pueden aportar en su oxidación del orden de 9,4 Kcal/g, los carbohidratos solamente 4, y algo más las proteínas. A esto se une el que los tejidos especializados en el acúmulo de carbohidratos de reserva (glucógeno), como es el caso del hígado, necesitan de una alta proporción de líquido intracelular (por cada gramo de glucógeno que se acumula, son necesarios alrededor de 1,5-2 g de agua), lo cual no ocurre cuando se trata de un tejido especializado en el acúmulo de lípidos, como es el caso del tejido adiposo. La suma de estos dos factores, el mayor poder calorífico de los triglicéridos y su menor proporción de líquido intracelular, hacen que la

cantidad de energía capaz de ser acumulada en tejido adiposo llegue a ser hasta 8 veces superior a la que se acumula en un tejido con altas reservas de glucógeno, como el hígado^(1,3).

La masa de tejido adiposo de un hombre adulto sano oscila entre un 13 y un 19 por 100 de su peso corporal, y un 80 por 100 de dicho tejido está formado por triglicéridos. Esto supone que un hombre de 70 kg de peso posee una reserva en triglicéridos de unos 10 kg, que son equivalentes a unas 93.000 Kcal, lo que implica que si le consideramos un gasto energético de 2.500 Kcal por día, dispone de reservas grasas para 37 días. Esto contrasta con el total de reservas hidrocarbonadas, que alcanzan solamente unos 190 g de glucógeno, equivalentes a 513 Kcal, que supone una reserva energética para unas 5 horas solamente. Un sujeto obeso de unos 140 kg puede tener de 60 a 70 kg de triglicéridos acumulados en su tejido adiposo y un gasto energético diario de unas 2.000 Kcal; es decir, dispone de los depósitos grasos suficientes para satisfacer sus requerimientos energéticos durante unos 11 meses⁽³⁾. Así pues, resulta evidente que el tejido adiposo es la forma más eficaz de que disponemos para acumular reservas energéticas, lo cual se lleva a cabo en forma de triglicéridos.

El tejido adiposo se localiza en la cavidad abdominal alrededor de los riñones y del mesenterio, bajo la piel y entre las fibras musculares esqueléticas. Además de su función como

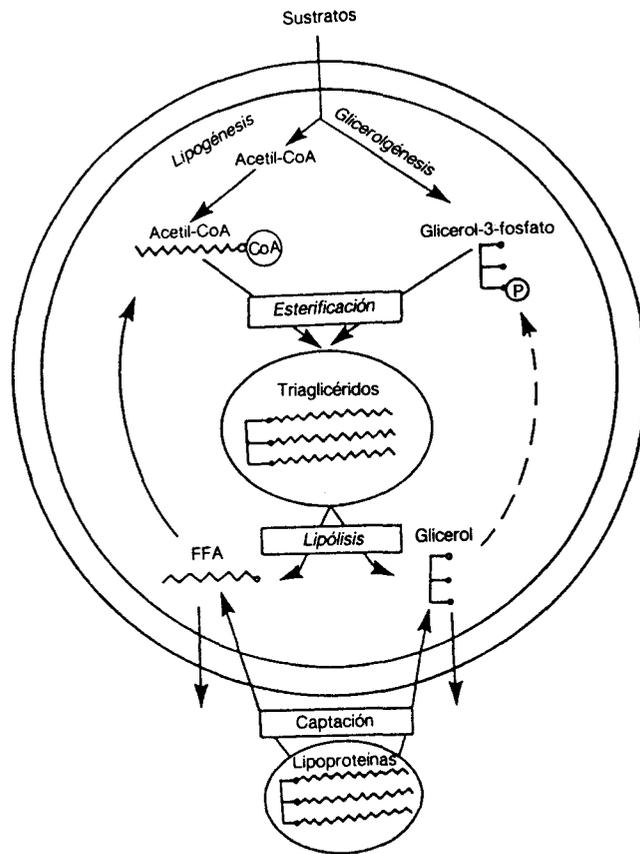


Figura 7.1. Esquema de las principales vías metabólicas del tejido adiposo blanco. FFA = Ácidos grasos libres.

reserva energética, aporta aislamiento térmico y una importante protección mecánica. Las células del tejido adiposo blanco están constituidas por una gran gota de grasa rodeada por un escaso citoplasma, que contiene proporcionalmente numerosas mitocondrias y un núcleo ubicado periféricamente.

A pesar de esta estructura y de su principal papel funcional como tejido de depósito de las reservas energéticas, que haría pensar en una actividad relativamente lenta o pasiva, el tejido adiposo se encuentra continuamente en un estado de activo metabolismo. En la Figura 7.1 se resumen las principales vías metabólicas del tejido adiposo blanco. Los triglicéridos acumulados se sintetizan a expensas de sustratos

que capta el tejido de la circulación o proceden de los triglicéridos que circulan en sangre asociados a las lipoproteínas ricas en ellos, los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). A su vez, los triglicéridos del tejido adiposo se encuentran en continuo proceso de lipólisis (hidrólisis) y reesterificación, y la respectiva actividad de estos procesos determina la liberación neta a la circulación de los ácidos grasos libres (FFA) y el glicerol, lo cual es controlado por factores hormonales, nutricionales y metabólicos⁽³⁴⁾.

Comentando datos obtenidos por nuestro propio grupo y otros derivados de la bibliografía, en el presente capítulo se revisan los aspectos más sobresalientes de estos procesos.

SÍNTESIS DE TRIGLICÉRIDOS

Una forma de estimar la capacidad de síntesis de triglicéridos del tejido adiposo en relación con la de otro tejido, el hígado, donde se conoce que es muy activa^(28,29,43,46,74,79), es determinar la incorporación a ellos de sustratos radioactivos. Como se observa en la Figura 7.2, tras la administración intravenosa de piruvato, glicerol o glucosa marcados con C^{14} a ratas alimentadas, la proporción de radiactividad presente en los componentes de los glicéridos de hígado y tejido adiposo es sustancialmente distinta entre ambos tejidos. La cantidad de ácidos grasos- C^{14} formados a partir de piruvato es muy superior en tejido adiposo que en hígado; la cantidad de ácidos grasos y glicerol de glicéridos formada a partir de glicerol es considerablemente inferior en tejido adiposo que en hígado; y la cantidad de glicerol de glicéridos formada a partir de la glucosa es muy similar para ambos tejidos, mientras que muy pequeña proporción de la radiactividad a partir de glucosa se presenta en forma de ácidos grasos.

Un análisis detallado de estos resultados obligaría a tener en cuenta los cambios en actividad específica de cada uno de los trazadores administrados a los animales, lo cual se escapa de la finalidad de este capítulo. Sin embargo, a simple vista ponen de manifiesto algunos aspectos que merece destacar, y que comentaremos con mayor detalle: 1) La lipogénesis (síntesis de ácidos grasos) es más activa en tejido adiposo que en hígado; 2) el glicerol administrado *in vivo* se utiliza en pequeña proporción por el tejido adiposo como sustrato para la síntesis de glicéridos, incluyendo la fracción de los ácidos grasos esterificados (lipogénesis), y 3) la glucosa es un mejor sustrato *glicerólgenético* que *lipogénico*, tanto en hígado como en tejido adiposo.

Evidentemente, la activa lipogénesis en tejido adiposo debe ser el resultado de una mayor actividad de las enzimas que controlan la vía. En la Figura 7.3 se presentan esquemáticamente las vías preferentes de salida del acetyl-CoA derivado del piruvato fuera de la mitocondria para su utilización como sustrato lipogénico y las principales fuentes del NADPH

necesario para esta vía. Nosotros hemos determinado en diversos tejidos de la rata algunas de las enzimas que participan en estas interacciones metabólicas: *6-fosfogluconato deshidrogenasa* y la *glucosa-6-fosfato deshidrogenasa*, como representantes de la vía de las pentosas (2, en la Figura 7.3) y la *enzima málica* (3, en la misma Figura 7.3). Como se muestra en la Figura 7.4, la actividad de estas enzimas es mucho más alta en hígado y tejido adiposo blanco que en corazón y músculo esquelético. A su vez, con excepción de la *6-fosfogluconato deshidrogenasa*, las actividades de las otras dos enzimas estudiadas son mucho más altas en tejido adiposo blanco que en hígado. Estos datos concuerdan con la mayor efectividad lipogénica del hígado y tejido adiposo con relación a otros tejidos, descrita por otros autores^(23,43) y con la más efectiva incorporación de piruvato a ácidos grasos esterificados en tejido adiposo que en hígado, encontrada por nosotros (Fig. 7.2).

En relación con la escasa incorporación de glicerol a los lípidos del tejido adiposo observada *in vivo*, cabe recordar que mediante incubaciones *in vitro* de tejido adiposo, nosotros habíamos afirmado anteriormente que este tejido estaba capacitado para metabolizar el glicerol^(20,25,36,40). Más recientemente, utilizando un diseño experimental de perfusión del tejido adiposo de rata *in situ*, hemos podido ratificar que, aunque el tejido está capacitado para metabolizar el glicerol, en condiciones normales lo hace en muy escasa proporción^(64,65). Cabe destacar, sin embargo, que esta capacidad de metabolizar glicerol por el tejido adiposo aumenta en situaciones de obesidad^(19,45) o de hipotiroidismo⁽⁷³⁾, donde también hay una tendencia al acúmulo de grasas en proporción al peso corporal^(61,70). La aumentada utilización de glicerol en tejido adiposo del obeso permite que disminuya la relación entre hidrólisis y síntesis de triglicéridos, ya que un aumento en la capacidad del tejido para reutilizar el glicerol favorece la reesterificación de los ácidos grasos que, de otra forma, se irían liberando a la circulación, dando lugar a un acúmulo neto de triglicéridos. Esta argumentación concuerda con la disminuida liberación de glicerol al medio, que se observa

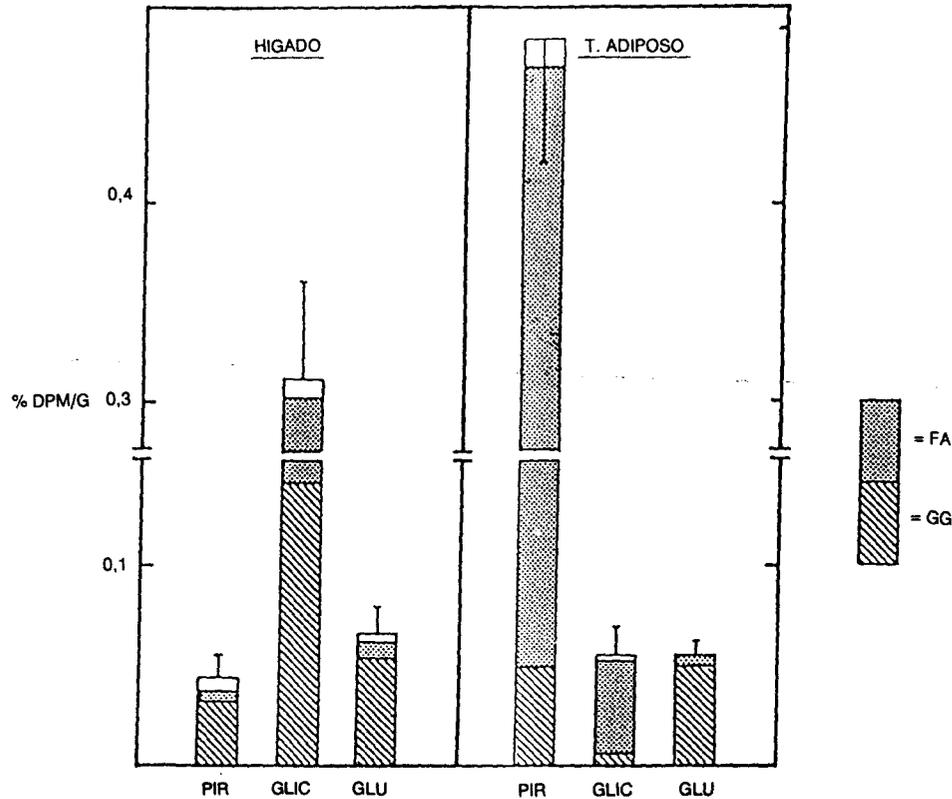


Figura 7.2. Incorporación en los lípidos del hígado y tejido adiposo blanco (epidídimo graso) en la rata alimentada, a los 30 minutos de la administración intravenosa de distintos sustratos marcados uniformemente con C¹⁴. La metodología utilizada para la extracción, purificación y fraccionamiento de lípidos fue similar a las descritas previamente (65). Los datos se expresan en porcentaje de la radioactividad administrada por g de peso fresco del respectivo tejido. FA: Ácidos grasos esterificados; GG: Glicerol de glicéridos; PIR: piruvato; GLI: glicerol; GLU: glucosa.

cuando se incubaba *in vitro* tejido adiposo procedente de ratas obesas (47).

Otro aspecto de interés que se deriva de los resultados arriba comentados (Fig. 7.4) es la escasa utilización de la glucosa como sustrato lipogénico en tejido adiposo. Aunque esto resulta aparentemente contradictorio, por estar generalmente aceptado que la glucosa es un sustrato preferente para la síntesis de lípidos, nosotros hemos podido comprobar recientemente en tejido adiposo de rata estudiado *in situ*, que la glucosa es peor sustrato lipogénico que el lactato (64,65). Sin embargo, como se

muestra en la Figura 7.5, la presencia de glucosa en el medio de incubación estimula la actividad lipogénica del tejido adiposo incubado *in vitro* a partir de sustratos tan distintos como piruvato, alanina, glutamato o glicerol (9,10). Así pues, aunque la glucosa no es el mejor sustrato lipogénico del tejido adiposo, es un eficaz activador de esta vía, si no el mejor. De hecho, en gran medida, el bien conocido efecto de la insulina estimulando la lipogénesis del tejido adiposo (23,44,67,75) es secundario al efecto de la hormona estimulando la captación y metabolización de la glucosa. Hace ya unos años,

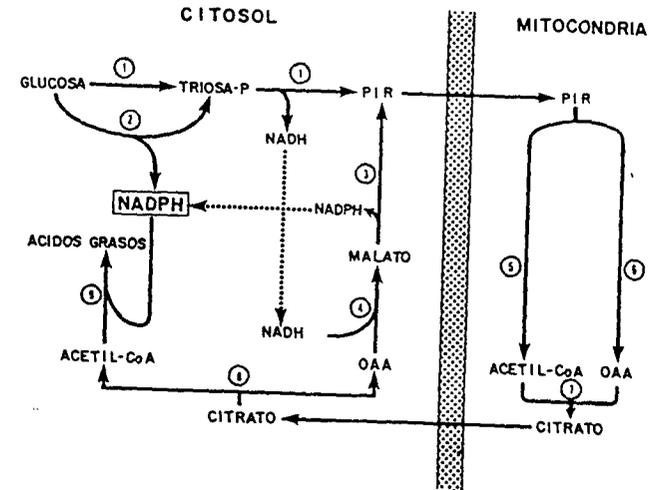


Figura 7.3. Participación del metabolismo de la glucosa en la síntesis de los ácidos grasos (lipogénesis): Fuente de sustratos y salida del acetil-CoA del interior de las mitocondrias en forma de citrato; y fuente principal, directa e indirecta, del NADPH necesario para la vía. 1 = Glucólisis; 2 = Vía de las pentosa-fosfato; 3 = Enzima málica; 4 = Málico deshidrogenasa; 5 = Piruvato deshidrogenasa; 6 = Piruvato carboxilasa; 7 = Citrato sintasa; 8 = Citrato liasa; 9 = Síntesis de ácidos grasos (lipogénesis).

nosotros demostramos que la presencia de insulina en el medio de incubación no tiene efecto sobre la síntesis de ácidos grasos a partir de glicerol, a no ser que dicho medio sea suplementado con glucosa (26,27), y esta interacción entre insulina y glucosa en cuanto a su efecto lipogénico ha sido ampliamente involucrada en la fisiopatología de la obesidad (4,18,22,23).

El mecanismo por el cual la glucosa estimula la síntesis de ácidos grasos en tejido adiposo se resume en la Figura 7.6. La glucosa, en su

metabolismo, aporta los principales sustratos y coenzimas necesarios para la lipogénesis: produce el piruvato derivado de la glucólisis, que es un sustrato esencial para la síntesis de acetil-CoA; facilita el aporte de citrato para sacar el acetil-CoA del interior de la mitocondria y para estimular la primera enzima clave de la lipogénesis, la *acetil-CoA carboxilasa*; de una forma directa (por su utilización por la vía de las pentosas) y de una forma indirecta (facilitando la transferencia del potencial reductor

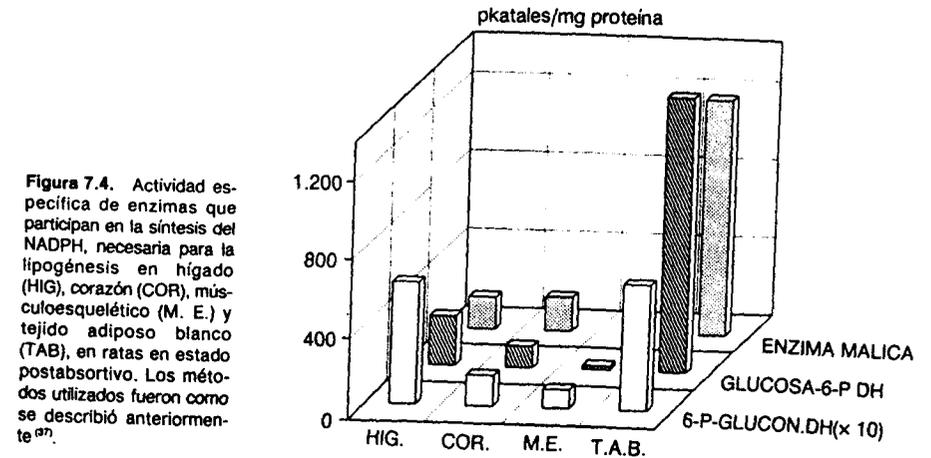


Figura 7.4. Actividad específica de enzimas que participan en la síntesis del NADPH, necesaria para la lipogénesis en hígado (HIG), corazón (COR), músculo esquelético (M. E.) y tejido adiposo blanco (TAB), en ratas en estado postabsortivo. Los métodos utilizados fueron como se describió anteriormente (67).

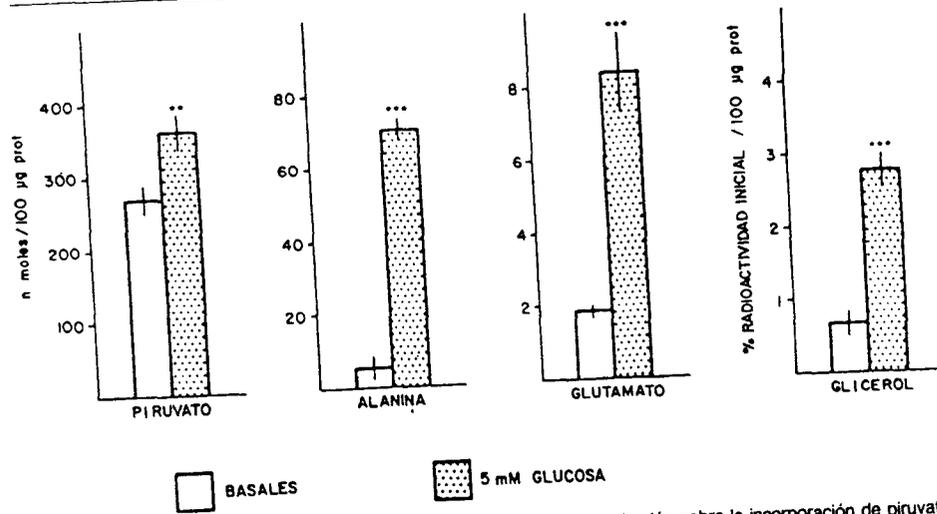


Figura 7.5. Efecto de la presencia de glucosa (5 mM) en el medio de incubación sobre la incorporación de piruvato, alanina, glutamato y glicerol radiactivos en ácidos grasos, por adipocitos procedentes del epidídimo graso de rata, aislados mediante tratamiento con colagenasa e incubados *in vitro* durante 120 min. Los respectivos sustratos radiactivos se suplementaron con el correspondiente metabolito frío para lograr una concentración de 1 mM en el medio de incubación. Los detalles experimentales y analíticos fueron iguales que los descritos previamente^(9,10).

de la glucólisis, el NADH en NADPH), la glucosa constituye la principal fuente del NADPH necesario para la acción de la *ácido graso sintasa*, el complejo enzimático que cataliza la mayor parte de la vía. A su vez, puesto que la actividad de la *acetil-CoA carboxilasa* es inhibida por el producto final de la vía, el palmitil-CoA, la glucosa disminuye este efecto mediante el aporte de glicerol-3-fosfato derivado de la reducción de la dihidroxiacetona-fosfato⁽³³⁾. Puesto que, en condiciones normales, ésta es la principal fuente de glicerol-3-fosfato con que cuenta el tejido adiposo, dicho efecto de la glucosa facilita la esterificación del palmitil-CoA, y de esta forma disminuye su concentración intracelular, evitando el efecto inhibidor que tiene sobre la *acetil-CoA carboxilasa*.

CAPTACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS CIRCULANTES. PAPEL DE LA LPL

Aunque hace unos años se pensaba que los ácidos grasos libres circulantes podían ser cap-

tados directamente por el tejido adiposo para ser esterificados y transformarse así en triglicéridos^(15,42,72), ahora sabemos que la principal fuente exógena de triglicéridos del tejido adiposo son aquellos que circulan en sangre asociados a las lipoproteínas ricas en ellos, quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). La lipoproteína lipasa (LPL) presente en el tejido hidroliza los triglicéridos de esas lipoproteínas circulantes y facilita la captación por el tejido de los ácidos grasos liberados, para su posterior esterificación y acúmulo^(2,48,49,60). Nosotros hemos demostrado que, aunque en menor proporción que los ácidos grasos, también el glicerol, liberado en la hidrólisis de los triglicéridos de las lipoproteínas circulantes por la LPL del tejido adiposo, es captado por el tejido para su posterior reesterificación en la síntesis de los triglicéridos ahí acumulados^(48,49,51).

Este proceso puede adquirir especial relevancia en condiciones en las que, como comentamos antes, puede presentarse un aumento en la actividad glicerolquinasa del tejido, y con ello, contribuir activamente al mayor de-

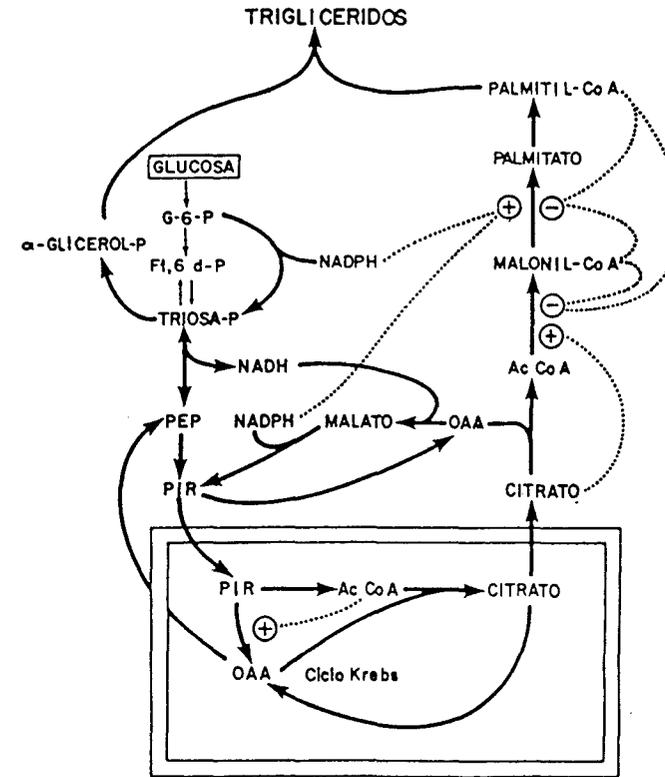


Figura 7.6. Esquema de la participación del metabolismo de la glucosa en el control de la síntesis de ácidos grasos. α -glicerol-P = glicerol-3-fosfato; G-6-P = glucosa 6-fosfato; F1,6 d-P = fructosa 1,6-di(o bis)fosfato; PEP = fosfoenol-piruvato; PIR = piruvato; OAA = oxaloacetato; Ac-CoA = acetil-CoA. Ver texto para comentarios.

pósito de lípidos, como es el caso en la obesidad.

La LPL se encuentra prácticamente en todos los tejidos extrahepáticos, pero es más activa en tejido adiposo que en ningún otro^(12,76). Es una acilglicerol éster hidrolasa que se localiza en el endotelio vascular, donde se ancla por interacciones electrostáticas con moléculas de heparán sulfato⁽²⁾. De esta forma, la LPL ejerce su acción hidrolítica sobre grandes partículas lipoproteicas del plasma, que por su tamaño no pueden atravesar las paredes endoteliales. La LPL se sintetiza en las células parenquimatosas del tejido en forma de proenzima inactiva, y se transporta al endotelio vascular de los capilares que irrigan el tejido, por un mecanismo complejo que implica su glicosilación y canalización a través de diversos compartimientos intracelu-

lares, e incluso su parcial degradación^(12,76). En este transporte la enzima va *madurando* y manifiesta su plena actividad cuando queda anclada en dicho endotelio vascular, donde facilita la transformación de los quilomicrones o VLDL en lipoproteínas de menor contenido en triglicéridos y mayor densidad, los denominados *remanentes de quilomicrones* y las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), respectivamente (Fig. 7.7). La actividad de la LPL del tejido adiposo disminuye con el ayuno⁽⁴⁹⁾, mientras que aumenta con la sobrealimentación y muy especialmente con la insulina^(11,41,76), a través de un mecanismo que aún no está esclarecido totalmente, pero que parece llevarse a cabo a nivel postranscripcional y postranslacional^(12,60).

La LPL es una glicoproteína con un peso

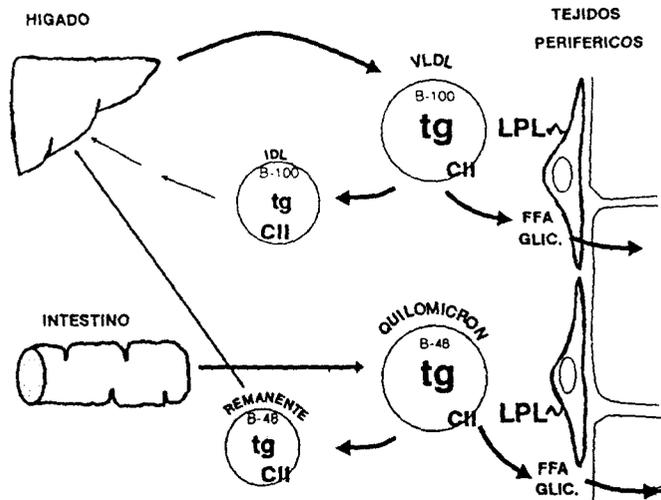


Figura 7.7. Esquema del papel funcional de la lipoproteína lipasa (LPL) anclada en el endotelio capilar, que modula el metabolismo de las lipoproteínas circulantes ricas en triglicéridos (VLDL, de origen hepático, y quilomicrones, de origen intestinal), y que facilita la hidrólisis de los triglicéridos (tg) que transportan y la captación tisular de sus productos, ácidos grasos libres (FFA) y glicerol. B-100 ó B-48 = apoproteína B-100 ó B-48; CII = apoproteína CII.

molecular de unos 58.000 daltons, cuya forma activa es un homodímero que está en equilibrio reversible con la forma monomérica, la cual es fácilmente inactivable⁽⁵²⁾. Varios dímeros de LPL actúan simultáneamente sobre cada VLDL o quilomicrón, hidrolizando preferentemente los enlaces sn-1 de los acilglicérols⁽³⁸⁾. En condiciones fisiológicas, la eliminación (o catabolismo) de la enzima tiene lugar mediante su asociación con las lipoproteínas sobre las que ha realizado su acción catalítica, que la transportan hasta el hígado, donde es degradada.

La molécula de LPL tiene cinco sitios funcionales⁽⁵⁸⁾: 1) Sitio de unión al heparán sulfato (glicosaminoglicano), para su anclaje al endotelio vascular; 2) sitio de unión a la interfase lípido-agua, que permite su unión a la partícula lipoproteica; 3) sitio de unión a la apoproteína C-II (apo CII); 4) sitio de unión a ácidos grasos, que facilita el reconocimiento del sustrato, y 5) sitio catalítico, que presenta algún aminoácido serina reactivo, ya que la enzima es una serina hidrolasa.

La LPL requiere para su actividad la presencia de apo CII, que se encuentra en sus sustratos, VLDL y quilomicrones⁽¹¹⁾. No se conoce con precisión la forma en que se realiza esta interacción, pero pacientes que carecen gené-

ticamente de dicha apoproteína no manifiestan actividad LPL y desarrollan una intensa hipertrigliceridemia, similar a la presente en sujetos con deficiencia de LPL^(50,69,71). Hay otras apoproteínas que modifican la efectividad de la activación apo CII sobre la LPL, y en particular éste es el caso de la apo CIII, que disminuye dicha activación, probablemente por desplazamiento de la apo CII de su sitio de unión a la enzima⁽⁵⁰⁾.

La LPL está sometida a un rápido proceso de síntesis y degradación, que permite ajustar su actividad a las necesidades energéticas o de acúmulo tisular de ácidos grasos. La actividad LPL de los distintos tejidos determina la canalización de los triglicéridos circulantes hacia unos o hacia otros, y ello justifica el que esté sujeta a un control en función del estado nutricional o endocrino del individuo. Así, la actividad LPL del tejido adiposo es alta durante el estado absorptivo, lo que facilita el que los triglicéridos de quilomicrones y VLDL sean hidrolizados en las inmediaciones del tejido para la captación subsiguiente por los adipocitos de los ácidos grasos, y en menor medida del glicerol, para su reesterificación y acúmulo⁽¹¹⁾. Durante el ayuno, por el contrario, la actividad LPL de este tejido disminuye⁽⁴⁹⁾, de manera que los triglicéridos de las lipoproteínas

circulantes son canalizados hacia otros tejidos que, como el músculo esquelético y el corazón, mantienen o incluso incrementan su actividad de LPL⁽⁷⁶⁾. Otra situación fisiológica, en la que se produce una clara direccionalidad de los triglicéridos circulantes a determinado tejido en función de los cambios de actividad de la LPL, es durante la última fase de la gestación y la lactancia. En esta situación disminuye intensamente la actividad LPL del tejido adiposo, mientras que se incrementa la de la glándula mamaria⁽⁶⁸⁾, asegurándose así el abastecimiento de ácidos grasos derivados de los triglicéridos circulantes para la formación de leche, y el desvío del flujo de triglicéridos circulantes del tejido adiposo a dicha glándula⁽¹¹⁾.

Los cambios de actividad de la enzima son el resultado de efectos hormonales que actúan de forma específica para cada tipo celular. Así, por ejemplo, mientras que la insulina activa la síntesis de mRNA de LPL en adipocitos, no la afecta en músculo⁽¹²⁾. A su vez, el AMPc inhibe intensamente la LPL de tejido adiposo, pero la aumenta en corazón, habiéndose propuesto que en el adipocito, el AMPc activa la tasa de degradación de la enzima⁽¹²⁾. Otro punto de regulación de la actividad LPL es en su proceso de maduración por glicosilación y su liberación al espacio extracelular. El adipocito dispone de una importante reserva intracelular de LPL, que no es detectable con los métodos habituales de extracción y que se libera tras la estimulación con heparina o insulina^(24,49). De hecho, como se muestra en la Figura 7.8, la actividad LPL que se detecta en trozos de tejido adiposo de rata es muy superior que la presente en adipocitos aislados mediante tratamiento con colagenasa, la cual elimina la LPL localizada extracelularmente. Sin embargo, en presencia de heparina en el medio de incubación, tanto los trozos de tejido como los adipocitos muestran un aumento de la liberación al medio de una considerable actividad de la enzima (Fig. 7.8). Así pues, la heparina logra estimular la maduración y secreción de parte de la LPL intracelular, que inicialmente era indetectable.

Es lógico pensar que este elaborado control de la actividad de la LPL sea el reflejo de su importante función en la direccionalidad tisular

de los triglicéridos de quilomicrones y VLDL, y en el propio metabolismo de las lipoproteínas. En el caso de sus repercusiones en la funcionalidad intrínseca del tejido adiposo, los cambios de actividad de la LPL que se observan en diversas circunstancias coadyuvan de forma importante con los de la síntesis endógena de triglicéridos, contribuyendo activamente al mayor o menor acúmulo de lípidos en este tejido.

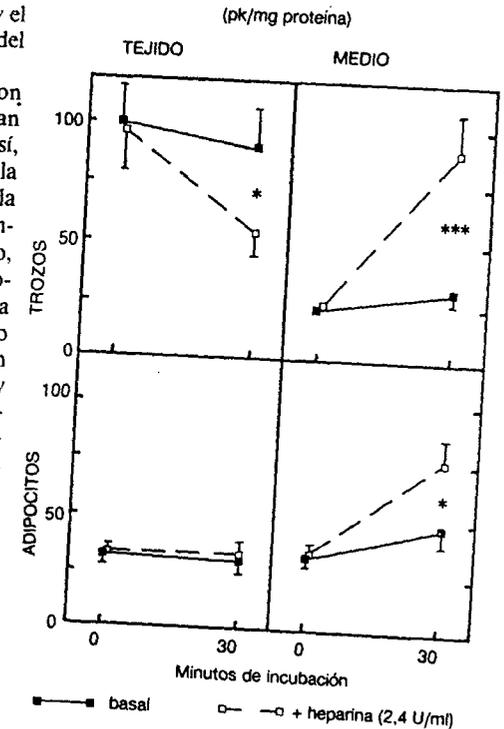


Figura 7.8. Actividad lipoproteína lipasa (LPL) en trozos de tejido o adipocitos aislados mediante el tratamiento previo con colagenasa, procedentes de epidídimo graso de ratas, incubados en presencia o no de heparina. En los recuadros de la izquierda se presentan los valores de actividad encontrados en los tejidos (trozos de adipocitos aislados), y en los de la derecha la presente en los respectivos medios de incubación. En todos los casos, los valores de actividad se expresan en unidades (picocatalas, pk) por mg de proteína en el correspondiente tejido. Para otros detalles metodológicos ver ref.⁽⁴⁹⁾.

LIPÓLISIS

La hidrólisis de triglicéridos intracelulares a ácidos grasos libres y glicerol (lipólisis) ocurre en todos los tejidos del organismo, aunque cuantitativamente alcanza su mayor eficacia en tejido adiposo. Aunque parte de esos productos de la lipólisis pueden ser transformados en sus formas activas, acil-CoA y glicerol-3-fosfato, respectivamente (Fig. 7.1), en su mayor parte son liberados a la circulación y, de hecho, el tejido adiposo constituye la principal fuente de estos metabolitos para el plasma⁽³⁴⁾.

La lipólisis del tejido adiposo se realiza en tres etapas, en las que se forman como productos intermedios los 1,2-diacilgliceroles y 2-monoacilgliceroles, terminando con la formación de glicerol (Fig. 7.9). En cada una de estas etapas se va liberando una molécula de ácido graso libre (FFA), por lo que éstos y el glicerol son los productos finales del proceso. La lipólisis es catalizada por un sistema enzimático formado por una *triacilglicérido lipasa*, también denominada *lipasa sensible a las hormonas* (LSH), que cataliza las dos primeras etapas de la reacción, y la *monoacilglicerol lipasa*, que cataliza la última etapa del proceso (Fig. 7.9). La especificidad de la LSH no es muy alta, ya que hidroliza también los ésteres de colesterol, para dar lugar a ácido graso libre y colesterol⁽³⁴⁾.

De la actividad de la lipólisis del tejido adiposo depende nuestra capacidad de retener o movilizar las reservas grasas, por lo que en el proceso evolutivo hemos logrado un sistema enormemente preciso para controlarla, y ello se realiza a nivel de la LSH. Esta enzima es controlada por diversos factores, entre los que destacan las hormonas, por lo que se le dio el nombre de *lipasa sensible a las hormonas* (LSH). Tiene una estructura dimerica, y su actividad es controlada por un sistema de interconversión por fosforilación, siendo inactiva en su forma menos fosforilada⁽⁵⁾. Las hormonas modulan su actividad por un sistema en cascada, dependiente de AMPc, y en el que, en última instancia, se modifica su grado de fosforilación^(59,66). Así, como se resume en la Figura 7.10, el efecto de una hormona lipolítica (catecolaminas, glucagón, ACTH, etc.) se inicia uniéndose a su receptor, y ello da lugar a

una activación de la enzima *adenilato ciclasa*, cuya acción catalítica consiste en sintetizar AMPc a partir de ATP. El AMPc, a su vez, activa la denominada *proteína quinasa dependiente de AMPc* o *proteína quinasa-A*, la cual cataliza la fosforilación de la HSL en hidroxilos de moléculas de serina, a expensas de la hidrólisis de ATP⁽⁶⁾. De esta forma más fosforilada, la LSH se encuentra en su configuración activa, catalizando la hidrólisis de triglicéridos y ésteres de colesterol. Se ha propuesto también que la LSH se fosforile por acción de una enzima distinta a la anterior (denominada *proteína quinasa activable por AMP* o *proteína quinasa-B*), que es dependiente de AMP en vez de AMPc, en un resto de serina distinto del fosforilado por la *proteína quinasa-A*. Esto impedirá la fosforilación de la LSH por la *proteína quinasa-A* y, con ello, su activación⁽³⁰⁾. Por otra parte, una *proteína fosfatasa* hidroliza los grupos fosfato que se habían incorporado a la LSH por acción de la *proteína quinasa-A*, dando lugar a su forma menos activa. Las hormonas y agentes antilipolíticos (insulina, prostaglandinas, FFA, ácido nicotínico) ejercen su acción desfosforilando parcialmente la enzima^(7,31,63), eliminan los fosfatos incorporados en los sitios reguladores de la misma, convirtiéndola en su configuración inactiva (Fig. 7.10).

El proceso de la acción antilipolítica es complejo y aún no se conoce en su totalidad, pudiendo diferir de unas hormonas o agentes a otros. El caso de la insulina se ha estudiado con especial atención, debido a sus implicaciones fisiológicas y patológicas en el hombre⁽¹⁴⁾. Se ha propuesto que su acción antilipolítica se ejerce como se resume en la Figura 7.11. Al inhibir la actividad de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*, la insulina disminuye la velocidad de fosforilación de la LSH. Este efecto es, a su vez, consecuencia de una disminución de los niveles intracelulares de AMPc, como resultado de la activación de la *fosfodiesterasa*, que cataliza la transformación de AMPc en 5'-AMP, y de la inhibición de la *adenilato ciclasa*, que cataliza la síntesis de AMPc^(7,8). La insulina ejerce también su acción antilipolítica activando la *proteína fosfatasa*, que cataliza la desfosforilación parcial de la LSH, lo cual se

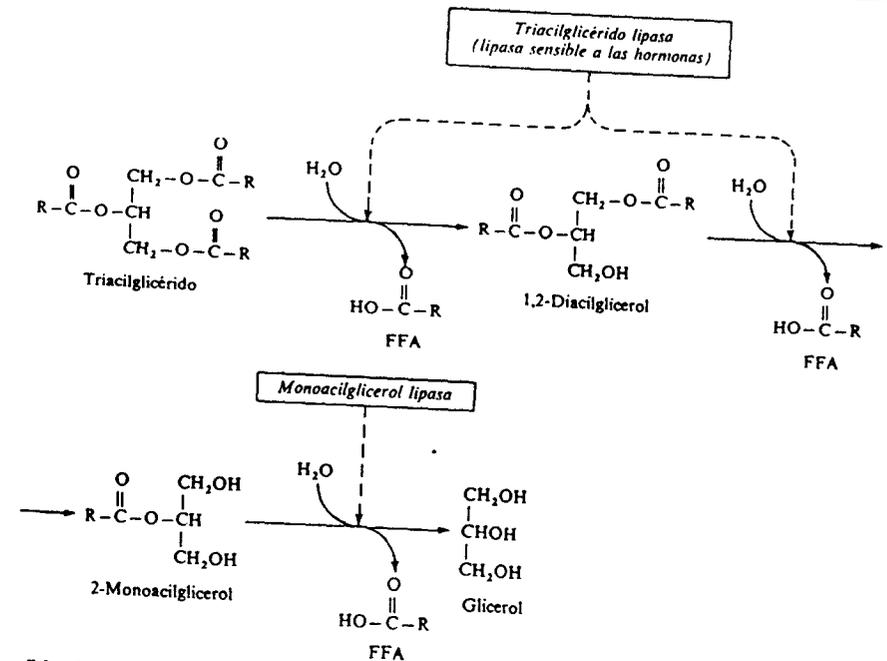


Figura 7.9. Reacciones de la lipólisis. La lipasa sensible a las hormonas (LSH) es la limitante de la vía, por lo que, una vez que se lleva a cabo la reacción catalizada por ella, el proceso termina en la formación de ácidos grasos libres (FFA) y glicerol.

realiza por acción directa sobre esta enzima o como consecuencia indirecta de la disminución intracelular de AMPc y la consecuente inactivación de la *proteína quinasa dependiente de AMPc*. La reducida actividad de esta enzima como consecuencia de la acción de la insulina, también impide que se fosforile un factor inhibidor de la *proteína fosfatasa* (el denominado *inhibidor-1*). De esta forma, al disminuir la acción inhibidora de dicho factor sobre la *proteína fosfatasa*, ésta queda activada y facilita la desfosforilación (inactivación) de la LSH (Fig. 7.11).

A pesar de la complejidad del proceso descrito, hay que resaltar que la modulación de la lipólisis del tejido adiposo es aún más compleja, ya que es el resultado de las acciones lipolíticas y antilipolíticas de las distintas hormonas y agentes, en función de sus respectivos niveles en sangre. En la Figura 7.12 se intenta dar una panorámica integradora del control global de

la cascada de regulación lipolítica. En ella puede observarse cómo, mientras que hay hormonas o agentes que ejercen su acción moduladora directamente (epinefrina y norepinefrina, glucagón, etc.), otras lo hacen indirectamente, realizando una acción sinérgica, permisiva o inhibidora (hormonas tiroideas, bloqueantes β-adrenérgicos, etc.), según el caso, sobre las primeras.

Los ácidos grasos libres son productos finales de la lipólisis, pero también la modulan. Aunque el mecanismo no se conoce bien, su acúmulo intracelular produce una inhibición de la *adenilato ciclasa* y de la LSH, y, por tanto, de la lipólisis. Independientemente de que ejerzan una acción directa sobre las indicadas enzimas, los ácidos grasos libres son desacopladores de la oxidación fosforilativa, reduciendo la disponibilidad de ATP y, consecuentemente, su utilización para la síntesis de AMPc, lo que inhibe la cascada de la lipólisis. Estos efec-

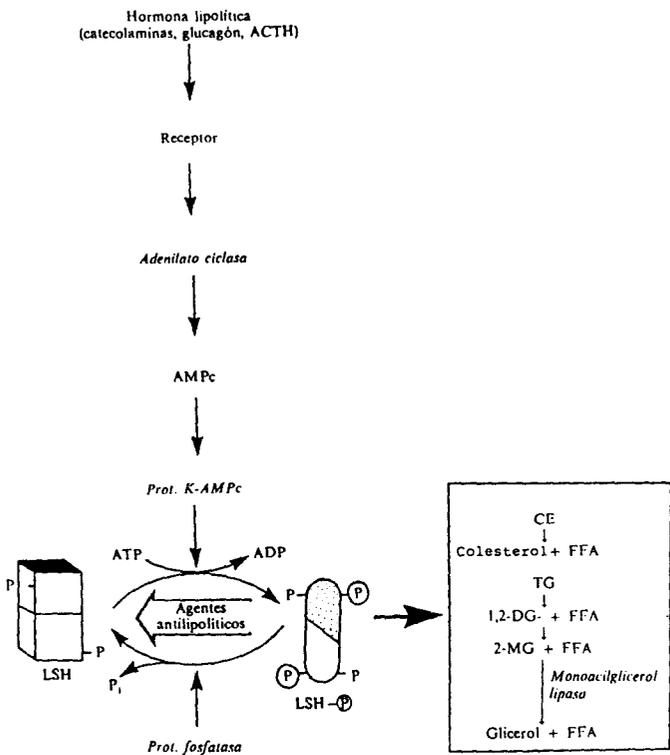


Figura 7.10. Control en cascada de la lipólisis a nivel de la lipasa sensible por hormonas (LSH), mediante su grado de fosforilación de una proteína quinasa dependiente de AMPc (Prot. K-AMPc, en la figura) y de una proteína fosfatasa.

tos justifican el que disminuya la efectividad de las hormonas lipolíticas y la propia lipólisis basal cuando se reduce la concentración circulante (o en el medio de incubación, cuando se estudia *in vitro*) de albúmina⁽³²⁾, ya que esta proteína es responsable del transporte de los ácidos grasos en sangre.

Los ácidos grasos libres que se forman en el interior de la célula adiposa, bien procedentes de la lipólisis, bien de la síntesis endógena o de la hidrólisis y captación de los triglicéridos de las lipoproteínas circulantes, pueden ser reesterificados a triglicéridos, y de esta forma ser acumulados, o pueden ser liberados a la circulación (Fig. 7.1). En el equilibrio de estas dos posibilidades juega un papel importante la disponibilidad de glicerol-3-fosfato para su esterificación. Ello depende, a su vez, de la glucosa que llega a este tejido de la circulación, ya que el tejido adiposo no hace gluconeogénesis, por

lo que depende de la glucosa que capta; de esta forma, la disminución de la glucemia, por ejemplo con el ayuno, reduce las posibilidades de formación de glicerol-3-fosfato y facilita la movilización neta de ácidos grasos, mientras que una dieta rica en carbohidratos la reduce, induciendo el acúmulo de grasas. Un reflejo de la efectividad de estas interacciones lo tenemos en el hecho descrito por nosotros hace ya varios años de que, en trozos de tejido adiposo incubado *in vitro*, la acción antilipolítica de la insulina llega a revertirse en presencia de epinefrina y glucosa^(26,27). En estas condiciones, la insulina facilita la utilización de la glucosa por la vía glucolítica, aportando glicerol-3-fosfato, y la epinefrina puede manifestar su máximo efecto lipolítico, al no estar interceptada por el acúmulo intracelular de ácidos grasos libres.

La disponibilidad de glicerol-3-fosfato en te-

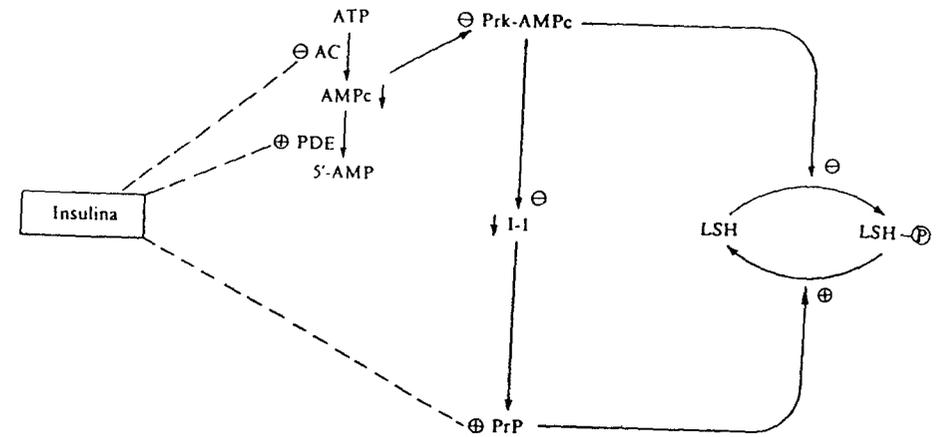


Figura 7.11. Mecanismo de la acción antilipolítica de la insulina mediante inhibición de la fosforilación de la LSH y activación de su desfosforilación. Ver explicación en el texto. Prk-AMPc = Proteína quinasa dependiente de AMPc; AC = Adenilato ciclasa; PDE = Fosfodiesterasa; I-1 = Factor inhibidor de la proteína fosfatasa, denominado factor-1; PrP = Proteína fosfatasa.

tejido adiposo es también dependiente de la actividad glicerolquinasa, que cataliza la fosforilación directa del glicerol. Esta capacidad del tejido adiposo ha sido muchas veces desestimada, ya que el hígado dispone de una elevada actividad de glicerolquinasa, y pocas posibilidades quedan para que algunas moléculas de glicerol circulante alcancen el tejido adiposo⁽²¹⁾. La presencia de actividad glicerolquinasa en tejido adiposo es, sin embargo, fisiológicamente importante, ya que permite la reutilización de parte del glicerol derivado de la lipólisis en el propio tejido.

En condiciones normales, este mecanismo parece cuantitativamente poco importante, pero se sabe que en condiciones de hiperinsulinismo se induce esta actividad de glicerolquinasa en tejido adiposo^(19,45,55), y ello puede contribuir activamente al desarrollo de la obesidad. La mayor reutilización de glicerol por el tejido adiposo, que se produce cuando aumenta la actividad de dicha enzima, hace que el balance neto entre esterificación y lipólisis se desequilibre en favor de la primera, facilitándose así el mayor acúmulo de triglicéridos.

DESTINO DE LOS PRODUCTOS DE LA LIPÓLISIS DEL TEJIDO ADIPOSEO

Mediante experimentos de hepatectomía en la rata y de trasplante hepático en el cerdo, hemos podido comprobar que el hígado constituye el principal órgano receptor de los productos de la lipólisis, el glicerol y los ácidos grasos libres^(16,54-56). Como se resume en la Figura 7.13, en el hígado, dichos productos se reúnen con los procedentes de los triglicéridos que captan asociados a las lipoproteínas que los transportan, en particular los remanentes de quilomicrones y de las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL). El glicerol es inmediatamente transformado en glicerol-3-fosfato, por acción de la glicerolquinasa y, tras su oxidación a dihidroxiacetona fosfato, es utilizado para la síntesis de glucosa, aunque también puede ser transformado en acetil-CoA para su oxidación por el ciclo del ácido cítrico o para su utilización en la síntesis de ácidos grasos. También el glicerol-3-fosfato puede ser esterificado en el hígado con los acil-CoA formados de los FFA que le llegan o que son sintetizados en el propio órgano. Como resultado de ello se forman triglicéridos que, junto con los procedentes de la captación de las lipoprotef-

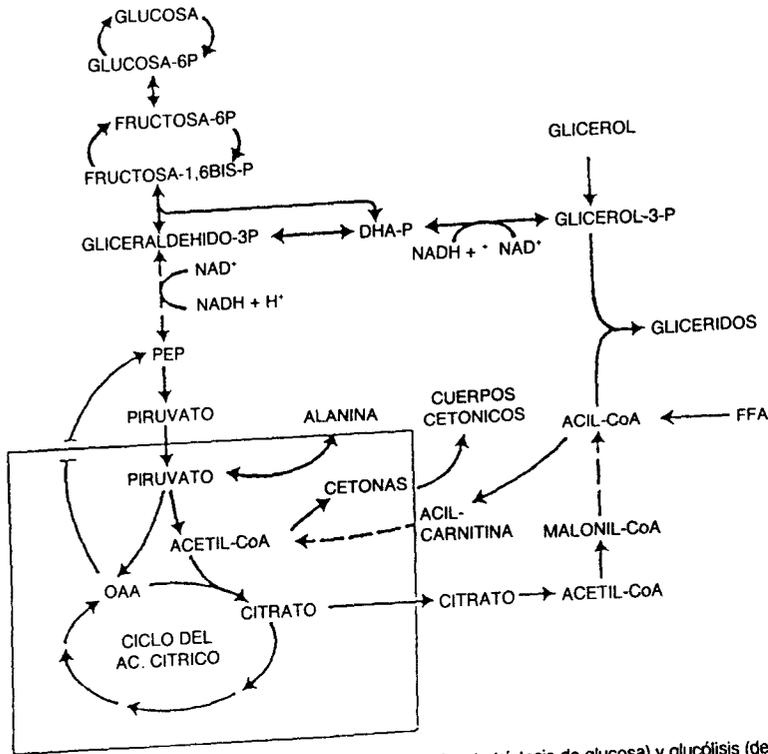


Figura 7.14. Integración en el hígado de las vías de gluconeogénesis (síntesis de glucosa) y glucólisis (degradación de glucosa a piruvato) con el metabolismo de los productos de la lipólisis de los tejidos adiposos, glicerol y ácidos grasos libres (FFA). Ver texto.

PAPEL DEL TEJIDO ADIPOSE EN EL CICLO GLUCOSA-ÁCIDOS GRASOS

En condiciones de *estrés hidrocarbonado*, en que las reservas de glucógeno en el hígado se encuentran deplecionadas, la actividad lipolítica del tejido adiposo se activa. Esto permite que aumente el consumo de los ácidos grasos liberados por el músculo, con la consiguiente reducción del consumo de glucosa. Junto a ello, en condiciones en que también aumenta la llegada al hígado de los ácidos grasos liberados de la lipólisis, éstos se oxidan, produciendo un aumento de las concentraciones hepáticas de acetil-CoA^(34,57). Las consecuencias meta-

bólicas de estos cambios son una reducción de la oxidación del piruvato derivado de la glucólisis, que es canalizado hacia la síntesis de glucosa, y una reducción global de la glucólisis con activación de la gluconeogénesis. Todo ello da lugar a un aumento en la producción neta de glucosa por el hígado.

A su vez, como consecuencia de esa activación de la oxidación de los ácidos grasos en el hígado, aumenta la producción de cuerpos cetónicos, que son liberados a la circulación para ser utilizados como sustratos energéticos alternativos por los tejidos extrahepáticos, en particular por el músculo esquelético. Esto contribuye también al menor consumo de glucosa por este tejido, y todo ello permite el mantenimiento de niveles relativamente normales de

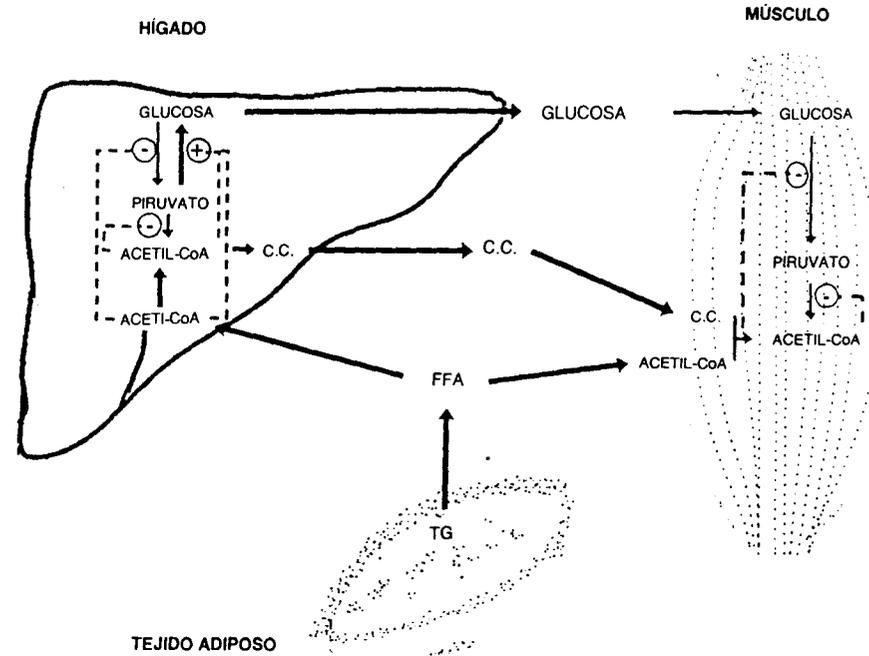


Figura 7.15. Los ácidos grasos libres (FFA) liberados del tejido adiposo por la lipólisis llegan al hígado, donde son transformados en acil-CoA y acetil-CoA. Estos compuestos inhiben la glucólisis y activan la gluconeogénesis, favoreciendo así la producción neta de glucosa por el hígado. Los cuerpos cetónicos (c. c.) son productos derivados de la transformación de los acil-CoA en acetil-CoA (β -oxidación) en el hígado, que se sintetizan especialmente en situaciones de hipoglucemia y salen a la circulación para ser utilizados por tejidos extrahepáticos, como el músculo esquelético. Este tejido también capta parte de los FFA liberados de la lipólisis del tejido adiposo. Y los productos de su metabolismo, así como el de los cuerpos cetónicos, inhiben la glucólisis. De esta forma se establece el denominado «ciclo de glucosa-ácidos grasos», que supone una activa contribución de la lipólisis del tejido adiposo en el mantenimiento de la homeostasis glucídica del organismo.

de glucosa plasmática, incluso durante períodos prolongados de ayuno.

Aunque los productos del metabolismo de los ácidos grasos no pueden ser utilizados en la síntesis de glucosa debido a la irreversibilidad de la *piruvato deshidrogenasa*⁽³⁵⁾, vemos cómo un aumento de los liberados del tejido adiposo preserva muy eficazmente la homeostasis glucídica. Por ello, estas interrelaciones metabólicas reciben el nombre de *ciclo de glucosa-ácidos grasos*⁽⁶²⁾, el cual se ha resumido en la Figura 7.15. De hecho, de forma inversa, cuando se recuperan los depósitos hepáticos de glucógeno, como ocurre en la realimentación

tras el ayuno, se reduce la velocidad de salida de ácidos grasos del tejido adiposo y consecuentemente disminuye su oxidación. Ello da lugar a que se incremente la utilización de glucosa por el músculo, lo cual contribuye activamente a la fijeza del estado estacionario de la glucosa circulante.

Todo ello pone de manifiesto el importante papel que juega el tejido adiposo en el balance metabólico del organismo, y muy particularmente en el consumo de la glucosa por diversos tejidos, garantizando su disponibilidad para aquellos que, como el tejido nervioso, dependen directamente de sus niveles circulantes.

RESUMEN Y CONSIDERACIONES FINALES

A pesar de que el tejido adiposo blanco constituye la mejor forma de que disponemos para acumular las reservas energéticas, su metabolismo es muy dinámico. El componente más abundante de este tejido son los triglicéridos, que se forman por síntesis endógena a través de la lipogénesis, glicerogénesis y esterificación, a partir de los sustratos que capta el tejido. También pueden proceder de la esterificación de los productos de la hidrólisis de los triglicéridos que circulan en sangre asociados a las lipoproteínas ricas en ellos, quilomicrones y VLDL, y este proceso es controlado por la *lipoproteína lipasa*. Esta enzima se encuentra en todos los tejidos extrahepáticos, aunque es especialmente activa en tejido adiposo blanco; se sintetiza en las células parenquimatosas del tejido, pero migra al espacio extracelular, anclándose en el endotelio capilar, donde realiza su acción catalítica. Ante un mismo estímulo nutricional o endocrino, la actividad de esta enzima varía de forma muy distinta de unos tejidos a otros y, aunque el mecanismo por el cual tiene lugar este control no está del todo esclarecido, el proceso permite direccionar los triglicéridos circulantes de unos tejidos a otros.

La lipólisis del tejido adiposo es catalizada por la *lipasa sensible a las hormonas*, que controla así la salida del tejido de los ácidos grasos libres y el glicerol derivados de la hidrólisis de los triglicéridos acumulados. Parte de estos productos de la lipólisis, y en particular los ácidos grasos libres, pueden ser reesterificados dentro del tejido. Precisamente el balance entre estas actividades de síntesis, hidrólisis y reesterificación, determina el acúmulo o la movilización neta de los depósitos grasos. En determinadas condiciones puede aumentar la capacidad del tejido adiposo para fosforilar el glicerol, y ello facilita una más activa reesterificación de los ácidos grasos, pudiendo contribuir activamente al desarrollo de la obesidad.

El hígado constituye el principal órgano receptor de los productos de la lipólisis. Aparte de ser parcialmente reesterificados para la síntesis de los triglicéridos, que se incorporan a las

VLDL para su secreción a la circulación, ambos productos pueden seguir otras vías de interés. El glicerol es utilizado como sustrato gluconeogénico, siendo incluso más eficaz su incorporación a glucosa que la de otros sustratos más característicos, como alanina o piruvato. Los ácidos grasos libres pueden ser oxidados y transformados en cuerpos cetónicos, que no se consumen en el hígado, sino que son segregados para su utilización por otros tejidos. En el hígado, los productos de esta oxidación inhiben la actividad glucolítica y estimulan la gluconeogénica, mientras que en los tejidos extrahepáticos, en particular el músculo esquelético, inducen el ahorro de glucosa. Todo ello permite el mantenimiento de la homeostasis glucídica en el organismo, incluso en situaciones en que las reservas hidrocarbonadas están deplecionadas, la cual no podría mantenerse sin la activa contribución del tejido adiposo blanco.

Agradecimientos

Los resultados aquí presentados se han obtenido parcialmente con ayudas del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (# 90/0253 y 92/0407).

BIBLIOGRAFÍA

- Argiles J, Herrera E. Appearance of circulating and tissue ¹⁴C-lipids after oral ¹⁴C-tripalmitate administration in the late pregnant rat. *Metabolism* 1989; 38: 104-108.
- Auwerx J, Leroy P, Schoonjans K. Lipoprotein lipase: Recent contributions from molecular biology. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1992; 29: 243-268.
- Banks P, Bartley W, Birt LM. *The biochemistry of the tissues*. Chichester, John Wiley and Sons, 1978: 249-260.
- Belfiore F, Iannello S, Rabuazzo AM. Insulin resistance in obesity: a critical analysis at enzyme level. A review. *Int J Obes* 1979; 3: 301-323.
- Belfrage P, Fredrikson G, Nilsson NO, Stralfors P. Regulation of adipose-tissue lipolysis by phosphorylation of hormone-sensitive lipase. *Int J Obes* 1981; 5: 635-641.
- Belfrage P, Fredrikson G, Olsson H, Stralfors P. Hormonal regulation of adipose-tissue lipolysis by reversible phosphorylation of hormone-sensitive lipase. *Prog Clin Biol Res* 1982; 102: 213-223.
- Belfrage P, Fredrikson G, Olsson H, Stralfors P. Regulation of adipose tissue lipolysis through reversible phosphorylation of hormone-sensitive lipase. *Adv Cyclic Nucleotide Protein Phosphorylation Res* 1984; 17: 351-359.
- Belfrage P, Fredrikson G, Olsson H, Stralfors P. Molecular mechanisms for hormonal control of adipose tissue lipolysis. *Int J Obes* 1985; 9 (Suppl. 1): 129-135.
- Bellido J, Herrera E. Effects of glucose on the metabolism of fructose and glycerol by isolated adipocytes from rat. *Rev Esp Fisiol* 1978; 34: 437-442.
- Bellido J, Herrera E. Utilization of pyruvate, alanine and glutamate by isolated fat cells and their effects on glycerol metabolism. *Rev Esp Fisiol* 1978; 34: 429-436.
- Borenstajn J. *Lipoprotein lipase*. Chicago, Evener Publ., 1987.
- Braun JEA, Severson DL. Regulation of the synthesis, processing and translation of lipoprotein lipase. *Biochem J* 1992; 287: 337-347.
- Cahill Jr GF. Obesity and the control of fuel metabolism. En: Bray GA, Bethune JE (eds.): *Treatment and management of obesity*. Hagerstown, Harper and Row, Publ., 1974: 3-16.
- Campbell PJ, Carlson MG, Hill JO, Nurjhan N. Regulation of free fatty acid metabolism by insulin in humans: Role of lipolysis and reesterification. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1992; 263: E1063-E1069.
- Carlson LA, Walldius G. Fatty acid incorporation into human adipose tissue in hypertriglyceridaemia. *Eur J Clin Invest* 1976; 6: 195-211.
- Carmaniu S, Herrera E. Effect of evisceration on the disposal of (14C)-palmitate in the rat. *Arch Int Physiol Biochim* 1979; 87: 955-961.
- Carmaniu S, Herrera E. Conversion of (U-¹⁴C)-glycerol, (2-³H)-glycerol and (1-¹⁴C)-palmitate into circulating lipoproteins in the rat. *Rev Esp Fisiol* 1979; 35: 461-466.
- Carnie JA, Smith DG, Mavris-Vavayannis M. Effects of insulin on lipolysis and lipogenesis in adipocytes from genetically obese (ob/ob) mice. *Biochem J* 1979; 184: 107-112.
- Chakrabarty K, Tauber JW, Sigel B, Bombeck CT, Jeffay H. Glycerokinase activity in human adipose tissue as related to obesity. *Int J Obes* 1984; 8: 609-622.
- Chaves JM, Herrera E. In vitro glycerol metabolism in adipose tissue from fasted pregnant rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1978; 85: 1299-1306.
- Chaves JM, Herrera E. In vivo glycerol metabolism in the pregnant rat. *Biol Neonate* 1980; 37: 172-179.
- Christophe J, Dehay JP, Winand J. Experimental basis of obesity. *Bibl Nutr Dieta* 1978; 8-16.
- Cusin I, Rohner-Jeanrenaud F, Terretaz J, Jeanrenaud B. Hyperinsulinemia and its impact on obesity and insulin resistance. *Int J Obes* 1992; 16 (Suppl. 4): S1-S11.
- Da Costa THM, Williamson DH. Effects of exogenous insulin or vanadate on disposal of dietary triacylglycerols between mammary gland and adipose tissue in the lactating rat: Insulin resistance in white adipose tissue. *Biochem J* 1993; 290: 557-561.
- Domínguez MC, 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* 1976; 8: 33-37.
- Domínguez MC, Herrera E. The effect of glucose, insulin and adrenaline on glycerol metabolism «in vitro» in rat adipose tissue. *Biochem J* 1976; 158: 183-190.
- Domínguez MC, 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* 1976; 8: 33-37.
- Fain JN, Dodd A, Novak L. Enzyme regulation in gluconeogenesis and lipogenesis. Relationship of protein synthesis and cyclic AMP to lipolytic action of growth hormone and glucocorticoids. *Metabolism* 1971; 20: 109-118.
- Farid M, Baldwin RL, Yang YT, Osborne E, Geichting G. Effects of age, diet and lactation on lipogenesis in rat adipose, liver and mammary tissues. *J Nutr* 1978; 108: 514-524.
- Garton AJ, Campbell DG, Carling D, Hardie DG, Colbran RJ, Yeaman SJ. Phosphorylation of bovine hormone-sensitive lipase by the AMP-activated protein kinase. A possible antilipolytic mechanism. *Eur J Biochem* 1989; 179: 249-254.
- Hales CN, Luzio JP, Siddle K. Hormonal control of adipose-tissue lipolysis. *Biochem Soc Symp* 1978; 97-135.
- Herrera E. Effect of albumin on glycerol metabolism in rat adipose tissue. *Rev Esp Fisiol* 1973; 29: 155-162.
- Herrera E. Formación de grasas: biosíntesis de

- ácidos grasos y triacilglicéridos. En: Herrera E (ed.): *Bioquímica. Aspectos estructurales y vías metabólicas*. Madrid, Interamericana, McGraw-Hill, 1991: 591-614.
34. Herrera E. Acúmulo y movilización de grasas. Oxidación de ácidos grasos. Cetogénesis. En: Herrera E (ed.): *Bioquímica. Aspectos estructurales y vías metabólicas*. Madrid, Interamericana/McGraw-Hill, 1991: 615-644.
 35. Herrera E. Ciclos del ácido cítrico y del ácido glicoxílico. En: Herrera E (ed.): *Bioquímica. Aspectos estructurales y vías metabólicas*. Madrid, Interamericana/McGraw-Hill, 1991: 333-355.
 36. Herrera E, Ayanz A. Calculation of lipolysis and esterification from glycerol metabolism in rat adipose tissue. *J Lipid Res* 1972; 13: 802-809.
 37. Herrera E, Knopp RH. Pentose monophosphate shunt dehydrogenases and fatty acid synthesis in late rat pregnancy. *Experientia* 1972; 28: 646-647.
 38. Herrera E, Lasunción MA. Metabolismo de las lipoproteínas. En: Herrera E (ed.): *Bioquímica. Aspectos estructurales y vías metabólicas*. Madrid, Interamericana/McGraw-Hill, 1991: 667-701.
 39. Herrera E, Lasunción MA, Martín A, Zorzano A. Carbohydrate-lipid interactions in pregnancy. En: Herrera E, Knopp RH (eds.): *Perinatal biochemistry*. Boca Ratón, CRC Press, 1992: 1-18.
 40. Herrera E, Pascual A. Effect of an amphetamine derivative on rat adipose tissue lipolysis and glycerol utilization in vitro. *Biochem Pharmacol* 1973; 22: 3131-3133.
 41. Herrera E, Ramos P, Martín A. Control by insulin of adipose tissue lipoprotein lipase activity during late pregnancy in the rat. En: Shafir E (ed.): *Frontiers in diabetes research. Lessons from animal diabetes III*. London, Smith-Gordon, 1991: 551-554.
 42. Kerpel SH, Shafir E, Shapiro B. Mechanism of fatty acid assimilation in adipose tissue. *Biochim Biophys* 1961; *Acta* 46: 495-504.
 43. Kim TS, Freake HC. Tissue specific regulation of lipogenesis by carbohydrate feeding and twenty four hour starvation in the rat. *Nutr Res* 1993; 13: 297-307.
 44. Kissebah AH, Tulloch BR, Hope-Gill H, Clarke PV, Vydelingum N, Fraser TR. Mode of insulin action. *Lancet* 1975; 1: 144-147.
 45. Koschinsky T, Gries FA. Glycerol kinase and lipolysis in human adipose tissue in relation to relative body weight. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 1971; 352: 430-432.
 46. Kuo PT, Feng L, Cohen NN, Fitts Jr WT, Miller LD. Lipogenesis in the hepatic tissue; lipogenesis and lipolysis in the adipose tissue of hyperglyceridemic and atherosclerotic patients. *Trans Assoc Am Physicians* 1966; 79: 187-204.
 47. Landerholm TE, Stern JS. Adipose tissue lipolysis in vitro: A predictor of diet-induced obesity in female rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1992; 263: R1248-R1253.
 48. Lasunción MA, Herrera E. Effect of pregnancy on the uptake of lipoprotein triglyceride fatty acids by isolated adipocytes in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1981; 98: 227-233.
 49. Lasunción MA, Herrera E. Changes with starvation in the rat of the lipoprotein lipase activity and hydrolysis of triacylglycerols from triacylglycerol-rich lipoproteins in adipose tissue preparations. *Biochem J* 1983; 210: 639-643.
 50. Lasunción MA, Gómez-Coronado D, Herrera E. Metabolismo de quilomicrones y VLDL. En: Rubies-Prat (ed.): *Hiperlipidemias y arteriosclerosis*. Barcelona, Espaxs, Publicaciones Médicas, 1993: 39-64.
 51. Lasunción MA, Herrera E. «In vivo» utilization of labelled esterified fatty acids and glyceride glycerol from triglyceride-rich lipoproteins in rat adipose tissue. *Horm Metab Res* 1981; 13: 335-339.
 52. Liu G, Bengtsson-Olivecrona G, Olivecrona T. Assembly of lipoprotein lipase in perfused guinea-pig hearts. *Biochem J* 1993; 292: 277-282.
 53. Llobera M, Muniesa A, Herrera E. Effects of hypo- and hyper-thyroidism on in vivo lipogenesis in fed and fasted rats. *Horm Metab Res* 1979; 11: 628-634.
 54. Mampel T, Camprodon R, Solsona J, Junca V, Herrera E. Changes in circulating glycerol, free fatty acids and glucose levels following liver transplant in the pig. *Arch Int Physiol Biochim* 1981; 89: 195-199.
 55. Mampel T, Herrera E. Effects of insulin on the utilization of 14C-glycerol and 14C-glucose in hepatectomized nephrectomized rats. *Diabete Metab* 1985; 11: 118-124.
 56. Mampel T, Villarroya F, Herrera E. Hepatectomy-nephrectomy effects in the pregnant rat and fetus. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 131: 1219-1225.
 57. Mayes PA. Lipid transport and storage. En: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (eds.): *Harper's biochemistry*. Norwalk, Appleton and Lange, 1993: 250-265.
 58. McLean LR, Demel RA, Socorro L, Shinomiya M, Jackson RL. Mechanism of action of lipoprotein lipase. En: Albers II, Segrest JP (eds.): *Methods in enzymology. Vol. 129. Plasma lipoproteins. Part B. Characterization, cell biology and metabolism*. Orlando, Academic Press, Inc., 1986: 738-763.
 59. Miyoshi Y, Uchida K, Takeda-Hara E, Nagai K, Okuda H. The mechanism of the lipolytic action of theophylline in fat cells. *Pharmacol Biochem Behav* 1981; 14: 701-706.
 60. Montalto MB, Bensadoun A. Lipoprotein lipase synthesis and secretion: Effects of concentration and type of fatty acids in adipocyte cell culture. *J Lipid Res* 1993; 34: 397-407.
 61. Muniesa A, Llobera M, Herrera E. Adipose tissue cellularity in hypo- and hyperthyroid rats. *Horm Res* 1979; 11: 254-261.
 62. Newsholme EA, Leech AR. Integration of carbohydrate and lipid metabolism. En: Newsholme EA, Leech AR (eds.): *Biochemistry for the medical sciences*. Chichester, John Wiley and Sons, 1983: 336-356.
 63. Nilsson NO, Stralfors P, Fredrikson G, Belfrage P. Regulation of adipose tissue lipolysis: effects of noradrenaline and insulin on phosphorylation of hormone-sensitive lipase and on lipolysis in intact rat adipocytes. *FEBS Lett* 1980; 111: 125-130.
 64. Palacín M, Lasunción MA, Herrera E. Utilization of glucose, alanine, lactate, and glycerol as lipogenic substrates by peritoneal adipose tissue in situ in fed and starved rats. *J Lipid Res* 1988; 29: 26-32.
 65. Palacín M, Lasunción MA, Asunción M, Herrera E. Circulating metabolite utilization by peritoneal adipose tissue in situ in the pregnant rat. *Metabolism* 1991; 40: 534-539.
 66. Pohl SL. Cyclic nucleotides and lipolysis. *Int J Obes* 1981; 5: 627-633.
 67. Prior RL, Smith SB. Hormonal effects on partitioning of nutrients for tissue growth: role of insulin. *Fed Proc* 1982; 41: 2545-2549.
 68. Ramirez I, Llobera M, Herrera E. Circulating triacylglycerols, lipoproteins and tissue lipoprotein lipase activities in the rat mothers and offspring during the perinatal period: effect of post-maturity. *Metabolism* 1983; 32: 333-341.
 69. Reina M, Brunzell JD, Deeb SS. Molecular basis of familial chylomicronemia: Mutations in the lipoprotein lipase and apolipoprotein C-II genes. *J Lipid Res* 1992; 33: 1823-1832.
 70. Robert M, Herrera E. Effect of postweaning thyroid status on endocrine and adipose development in rats. *Am J Physiol* 1988; 255: E280-E286.
 71. Rosseneu M, Bury J. Apolipoprotein assays for the diagnosis of hyperlipidemias. En: Wildhalm K, Naito HK (eds.): *Recent aspects of diagnosis and treatment of lipoprotein disorders: Impact on prevention of atherosclerotic diseases*. New York, Alan R. Liss, Inc., 1988: 143-154.
 72. Rubba P. Fractional fatty acid incorporation into human adipose tissue (FIAT) in hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis* 1978; 29: 39-42.
 73. Seibel MJ, Llobera M, Herrera E. Effects of glucose, insulin and adrenalin on glycerol metabolism in adipose tissue from hyperthyroid rats. *Mol Cell Endocrinol* 1978; 10: 307-318.
 74. Shafir E, Trostler N. Sucrose diet induced enzymatic and hormonal responses affecting carbohydrate, lipid and energy metabolism in two species differing in insulin availability: spiny and ob/ob mice. *Int J Biochem* 1984; 16: 375-382.
 75. Smith SB, Prior RL, Mersmann HJ. Interrelationships between insulin and lipid metabolism in normal and alloxan-diabetic cattle. *J Nutr* 1983; 113: 1002-1015.
 76. Sugden MC, Holness MJ, Howard RM. Changes in lipoprotein lipase activities in adipose tissue, heart and skeletal muscle during continuous or interrupted feeding. *Biochem J* 1993; 292: 113-119.
 77. Zorzano A, Herrera E. Comparative utilization of glycerol and alanine as liver gluconeogenic substrates in the fed late pregnant rat. *Int J Biochem* 1986; 18: 583-587.
 78. Zorzano A, Lasunción MA, Herrera E. Role of the availability of substrates on hepatic and renal gluconeogenesis in the fasted late pregnant rat. *Metabolism* 1986; 35: 297-303.
 79. Zorzano A, Soley M, Herrera E. Rapid effects of insulin and glucose on the hepatic incorporation of gluconeogenic substrates into glyceride glycerol and glycogen. *Int J Biochem* 1989; 21: 1071-1075.