

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

## Cambios en la lipólisis basal y en la lipólisis inducida por la adrenalina en adipocitos aislados del tejido graso epididimal de la rata, por efectos del 3'5' monofosfato cíclico de adenosina, dibutiril 3'5' monofosfato cíclico de adenosina y propranolol

ROBERTO LLAMAS\*

*La adrenalina es la hormona dotada de mayor actividad lipolítica, cuyos efectos se explican porque induce la síntesis previa de 3' 5' monofosfato cíclico de adenosina. El monofosfato es el agente primario que activa a las enzimas lipolíticas, mediante la acción directa de la proteinquinasa que de él depende.*

*El 3' 5' dibutiril monofosfato de adenosina, un análogo sintético del 3' 5' monofosfato, se ha mostrado más efectivo que éste como activador de algunos procesos fisiológicos. En lo que se refiere a la lipólisis, su actividad es igual a la del monofosfato.*

*El bloqueador beta adrenérgico propranolol, inhibe parcialmente la lipólisis inducida por la adrenalina, porque seguramente bloquea, en igual forma, la biosíntesis del monofosfato originada por la hormona.*

*Por lo contrario, el propranolol carece de acción inhibitoria directa sobre la lipólisis producida por el monofosfato, lo que se encuentra de acuerdo con sus efectos primarios de bloqueador adrenérgico.*

El 3'5' monofosfato cíclico de adenosina (MCA) da lugar, entre otras funciones biológicas de primordial importancia, a la activación de las enzimas lipolíticas, lo que contribuye a regular los cambios metabólicos relacionados con la síntesis y almacenamiento de lípidos y con la liberación de ácidos grasos, particularmente en el tejido adiposo. El nucleótido activa a la triglicéridasa hormono sensible,<sup>1</sup> una de las más importantes enzimas lipolíticas, así como a la enzima lipolítica hormono sensible que actúa a pH ácido (4.0) y a las hidrolasas de los di y monoglicéridos, distintas para substratos cíclicos y acíclicos. Las hidrolasas de ésteres del colesterol responden en forma igual al nucleótido.<sup>2-5</sup>

En realidad, la activación de estas enzimas lipolíticas es ejercida en forma directa por la proteinquinasa dependiente del MCA, de tal modo que los inhibidores de la acción de esta quinasa anulan el estímulo que el monofosfato ejerce sobre la lipólisis.<sup>3, 6</sup>

Por su parte, los efectos lipolíticos de la adrenalina, noradrenalina e isoproterenol, se explican porque tales sustancias estimulan la biosíntesis del MCA, al aumentar la formación o la actividad de la adenilciclase, enzima que transforma al trifosfato de adenosina (ATP) en monofosfato cíclico.

Es pertinente señalar que el ATP agregado a adipocitos aislados no modifica la lipólisis basal, porque en tales condiciones no cambia a monofosfato cíclico; por lo contrario, cuando se agrega, conjuntamente con adrenalina o con glucagon, los efectos lipolíticos de estas hormonas se incrementan, seguramente por el

\* Académico titular. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.

Cuadro 1. Cambios en la lipólisis basal de adipocitos del tejido graso epididimal de la rata (correspondientes a 0.30 g. de tejido adiposo total) producidos por la adición de dos micromolas de monofosfato cíclico de adenosina y por dos micromolas de dibutilil monofosfato cíclico de adenosina. (Miliequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa).

Adipocitos	Grasa más MCA	Grasa más dibutilil MCA
0.040	0.049	0.049
0.039	0.047	0.045
0.037	0.050	0.048
0.042	0.049	0.045
0.038	0.048	0.042
0.039	0.044	0.042
0.036	0.040	0.040
0.040	0.048	0.046
0.039	0.049	0.047
0.040	0.048	0.047
Prom. 0.039	Prom. 0.047	Prom. 0.045
Desv. est. ±0.0017	Desv. est. ±0.0030	Desv. est. ±0.0029
Error est. ±0.0005	Error est. ±0.0009	Error est. ±0.0009
Actividad 100%	Actividad 120%	Actividad 115%

cambio del ATP a MCA, favorecido tanto por la adrenalina como por el glucagon.<sup>7</sup>

La insulina, o sea la principal hormona lipogénica, origina, por lo contrario, disminución en la síntesis intracelular del MCA, lo que hace que se abata la actividad de las enzimas lipolíticas, principalmente de la trigliceridasa hormono sensible; además, el monofosfato inhibe directamente la actividad de la lipasa lipoproteica o lipoprotein lipasa, cuyas funciones son lipogénicas; por lo tanto es este otro mecanismo favorecedor de la lipogénesis. Por otra parte, la insulina estimula en forma directa la actividad de diversas enzimas lipogénicas.<sup>8-11</sup>

La inervación del tejido adiposo se encuentra formada por fibras simpáticas noradrenérgicas posganglionares en forma de plexos periarteriales y periarterioles, lo que permite la distribución uniforme de los estímulos adrenérgicos, factor de importancia en la lipólisis;<sup>12</sup> la estimulación adrenérgica es ejercida fundamentalmente por la adrenalina, cuya actividad, en lo que a efectos lipolíticos se refiere, es mayor que la ejercida por la noradrenalina.<sup>18</sup>

En el tejido adiposo existen receptores alfa y beta, que responden a los estímulos alfa y beta ejercidos por las catecolaminas; predominan los de tipo beta, de tal modo que los efectos de la epinefrina son bloqueados sobre todo por el propranolol y otras sustan-

cias de acción semejante. Los bloqueadores alfa son efectivos solamente a concentraciones elevadas.<sup>13-15</sup>

Los bloqueadores beta, y en menor grado los alfa, impiden la biosíntesis de la adenilciclasa, que como ya se ha visto es función de las catecolaminas; en estas condiciones se abate la formación de MCA y de la proteinquinasa que de él depende.

En diversos procesos fisiológicos en los que son evidentes los efectos del MCA, un análogo sintético del mismo, el dibutilil 3'5' monofosfato cíclico de adenosina, muestra mayor actividad.

En el presente trabajo se ha estudiado, comparativamente, el efecto que el MCA y el dibutilil MCA ejercen sobre la lipólisis basal en adipocitos aislados del tejido graso epididimal de la rata. Se ha investigado, además, la acción que sobre la lipólisis inducida por la adrenalina y por el MCA ejerce el propranolol.

### Material y métodos

Ratas blancas machos de 200 a 300 gramos de peso, procedentes de la granja del Instituto de Biología, fueron alojadas en jaulas individuales y se las mantuvo con dieta *ad libitum* a base de Purina<sup>®</sup> y agua natural. Previa anestesia con éter etílico fueron muertas por fractura cervical. El tejido adiposo epididimal se extrajo y se pesó de inmediato. Se incubó durante una hora en amortiguador de bicarbonato de sodio con albúmina (Sigma Chem. Co.) al 4 por ciento, al que se agregó colagenasa bacteriana (Sigma Chem. Co.) para separar los adipocitos, según el método de Rodbell.<sup>16</sup> Obtenida la suspensión de células grasas, fueron incubadas en el incubador Dubnoff durante 120 minutos a 38 grados centígrados. En cada experimento se utilizó el equivalente a 0.30 g. de tejido adiposo íntegro. Las concentraciones de las sustancias cuyos efectos se estudiaron fueron como sigue: adrenalina (Sigma Chem. Co.), 20 microgramos; MCA (Sigma Chem. Co.), 2 micromolas; dibutilil MCA (Sigma Chem. Co.), 2 micromolas; propranolol (Sigma Chem. Co.), 20 microgramos. El volumen total en cada matraz de incubación fue de 4 ml.

La lipólisis se apreció cuantificando la cantidad de ácidos grasos no esterificados liberados en cada experimento.<sup>17</sup> Los resultados se expresan en miliequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa.

### Resultados

Los resultados se puntualizan en los cuadros 1, 2 y 3.

### Discusión

El 3'5' monofosfato cíclico de adenosina es sintetizado en el tejido adiposo por efecto de las catecolaminas, particularmente de la adrenalina, debido a la mayor formación o aumento de actividad de la adenilciclasa originada por esas hormonas. Tal modalidad funcional del tejido graso débese a la existencia en él de receptores alfa y beta, que responden a los estímulos alfa y beta adrenérgicos.

Cuadro 2. Cambios en la lipólisis basal en adipocitos del tejido graso epididimal de la rata (correspondientes a 0.30 g. de tejido adiposo total) producidos por la adición de 20 microgramos de adrenalina más 20 microgramos de propranolol. (Millequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa).

Adipocitos	Adipocitos más adrenalina	Adipocitos más adrenalina más propranolol.
0.037	0.043	0.040
0.036	0.042	0.042
0.038	0.046	0.041
0.040	0.049	0.042
0.039	0.048	0.043
0.037	0.042	0.042
0.039	0.048	0.043
0.039	0.047	0.043
0.040	0.048	0.040
0.038	0.047	0.042
Promedio 0.038	Promedio 0.046	Promedio 0.041
Desv. est. ±0.0014	Desv. est. ±0.0026	Desv. est. ±0.0013
Error est. ±0.0004	Error est. ±0.0008	Error est. ±0.0004
Actividad 100%	Actividad 121%	Actividad 108%

El nucleótido, agregado directamente a adipocitos aislados, estimula la lipólisis basal y su efecto es de magnitud semejante al ejercido por su análogo sintético dibutilil 3'5' monofosfato cíclico de adenosina.

En el tejido adiposo predominan los receptores beta, de tal modo que los bloqueadores del mismo nombre, como el propranolol, son agentes eficaces que se oponen al efecto que sobre la lipólisis tiene la adrenalina, porque impiden o dificultan la síntesis del MCA, factor primario en la estimulación de la lipólisis. Los bloqueadores alfa son mucho menos efectivos.

Dado su mecanismo de acción, el bloqueador beta, propranolol, no hace disminuir la lipólisis originada *in vitro* por el monofosfato cíclico.

#### REFERENCIAS

1. Khoo, J. C.; Alegria, A. A. y Steinberg, D.: *The mechanism of activation of hormone sensitive lipase in human adipose tissue*. J. Clin. Invest. 53: 1124, 1974.
2. Khoo, J. C.; Steinberg, D.; Huang, J. J. y Vagelos, P. R.: *Triglyceride, diglyceride, monoglyceride and cholesterol ester hydrolases in chicken adipose tissue activated by adenosine 3'5' monophosphate dependent protein kinase. Chromatographic resolution and immunochemical differentiation from lipoprotein lipase*. J. Biol. Chem. 251: 2882, 1976.
3. Pittman, R. C.; Khoo, J. C. y Steinberg, D.: *Cholesterol*

Cuadro 3. Cambios en la lipólisis basal en adipocitos del tejido graso epididimal de la rata (correspondientes a 0.30 g. de tejido adiposo total) producidos por la adición de dos micromolas de monofosfato cíclico de adenosina y por dos micromolas de monofosfato cíclico de adenosina más 20 microgramos de propranolol. (Millequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa).

Adipocitos	Adipocitos más MCA	Adipocitos más MCA más propranolol
0.040	0.045	0.046
0.040	0.046	0.045
0.037	0.046	0.045
0.038	0.048	0.048
0.038	0.048	0.048
0.041	0.049	0.050
0.040	0.046	0.047
0.042	0.050	0.049
0.039	0.050	0.048
0.037	0.048	0.047
Promedio 0.039	Promedio 0.048	Promedio 0.047
Desv. est. ±0.0017	Desv. est. ±0.0019	Desv. est. ±0.0017
Error est. ±0.0005	Error est. ±0.0006	Error est. ±0.0005
Actividad 100%	Actividad 123%	Actividad 120%

*esterase in rat adipose tissue and its activation by cyclic adenosine 3'5' monophosphate-dependent kinase*. J. Biol. Chem. 250: 4505, 1975.

4. Hjelmhal, P. y Fredholm, B. B.: *Cyclic AMP dependent and independent inhibition of lipolysis by adenosine and decreased pH*. Acta Physiol. Scand. 96: 170, 1976.
5. Mersham, H. J.; Brown, L. J.; Beuving, R. D. y Arakelian, M. C.: *Lipolytic activity of swine adipocytes*. Amer. J. Physiol. 230: 1439, 1976.
6. Lamberts, S. W. J.; Timmermans, H. A. T.; Kramer-Blankstijn, M. y Birkenhager, J. C.: *The mechanisms of the potentiating effect of glucocorticoids on catecholamine-induced lipolysis*. Metab. Clin. Exp. 24: 681, 1975.
7. Llamas, R.: *Efectos del 3'5' monofosfato cíclico de adenosina, trifosfato de adenosina, noradrenalina y glucagon, sobre la lipólisis basal in vitro en el tejido adiposo epididimal de la rata*. GAC. MÉD. MÉX. 113: 539, 1977.
8. Mukherjee, C. y Jungas, R. L.: *Activation of pyruvate dehydrogenase in adipose tissue by insulin. Evidence for an effect of insulin on pyruvate dehydrogenase phosphate phosphatase*. Biochem. J. 148: 229, 1975.
9. Goodridge, A. G. y Adelman, T. G.: *Regulation of malic enzyme synthesis by insulin, triiodothyronine, and glucagon in liver cells in culture*. J. Biol. Chem. 251: 3027, 1976.
10. Diamant, S. y Shafir, E.: *Modulation of the activity of insulin dependent enzymes of lipogenesis by glucocorticoids*. Eur. J. Biochem. 53: 541, 1975.

11. Belfiore, F.; Borzi, V.; Napoli, E. y Rabuazzo, A. M.: *Enzymes related to lipogenesis in the adipose tissue of obese subjects*. *Metabolism* 25: 483, 1976.
12. Ballantyne, B. y Raftery, A. T.: *The intrinsic autonomic innervation of white adipose tissue*. *Cytobios* 10: 187, 1974.
13. Mersham, H. J.; Brown, L. J.; Underwood, M. C. y Stanton, H. C.: *Catecholamine induced lipolysis in swine*. *Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochim.* 47: 263, 1974.
14. Schimmel, R. J.: *Roles of alpha and beta adrenergic receptors in control of glucose oxidation in hamster epididymal adipocytes*. *Biochim. Biophys. Acta* 428: 379, 1976.
15. Reckless, J. P. D.; Gilbert, C. H. y Galton, D. J.: *Alpha adrenergic receptor activity, cyclic AMP and lipolysis in adipose tissue of hypothyroid man and rat*. *J. Endocrinology* 68: 419, 1978.
16. Rodbell, M. M.: *Metabolism of isolated fat cells. I. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis*. *J. Biol. Chem.* 239: 375, 1964.
17. Dole, V. P.: *A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose*. *J. Clin. Invest.* 35: 150, 1956.