

Influencias hormonales sobre la lipólisis basal en adipocitos aislados del tejido graso epididimal de la rata

ROBERTO LLAMAS*

La cetoacidosis diabética se origina, no solamente por deficiencias de acción de la insulina, hormona lipogénica y antilipolítica, sino además por la excesiva producción de hormonas lipolíticas como las catecolaminas, particularmente de la adrenalina, el glucagon, la somatotropina y el cortisol.

Se ha estudiado la actividad lipolítica de dichas hormonas sobre adipocitos aislados del tejido graso epididimal, en sistemas de incubación carentes de glucosa, así como los efectos adversos de la insulina sobre tal actividad. La adrenalina eleva la lipólisis basal de 100 a 135 por ciento y la insulina, agregada conjuntamente, la hace descender a 115 por ciento. El glucagon la incrementa a 120 por ciento y la insulina la reduce a 110 por ciento. La somatotropina bovina la aumenta a 117 por ciento y la insulina la baja a 110 por ciento. El propranolol inhibe la lipólisis adrenalínica de 100 a 87 por ciento. El cortisol, in vitro, estimula la lipólisis basal tan sólo en 10 por ciento. No se pudo demostrar efecto inhibitorio de la insulina sobre este efecto.

La lipólisis y la lipogénesis se encuentran reguladas por diversos factores, entre los cuales son de particular importancia los hormonales. Diversas hormonas estimulan a la primera, liberando ácidos grasos, que al ser puestos en libertad, a partir de los triglicéridos existentes en el tejido adiposo, quedan en disponibilidad metabólica para ser utilizados como fuente de energía y para formar cuerpos cetónicos.

Entre las más importantes hormonas lipolíticas se encuentran la corticotropina,¹⁻³ el glucagon, la somatotropina⁴ la adrenalina y noradrenalina⁵⁻⁷ y en general las hormonas de efectos glucocorticoides como el cortisol, incluyendo a los de estruc-

tura modificada como la dexametasona y otras.^{8,9} Las hormonas tiroideas, triyodotironina y tiroxina, son, a su vez, hormonas lipolíticas.¹⁰⁻¹²

Frente a esta variedad de hormonas que favorecen la lipólisis y que por lo tanto se oponen a la lipogénesis, la única hormona que contrarresta fisiológicamente tales efectos es la insulina, a la que se considera como lipogénica y antilipolítica.¹³⁻¹⁵ Las deficiencias insulínicas repercuten en forma muy notable, por lo tanto, sobre la no formación de los triglicéridos y sobre su excesiva desintegración, con liberación de ácidos grasos, aumento de los cuerpos cetónicos y disminución de la masa del tejido adiposo. Además, durante las fases críticas de la falta de acción insulínica, o sea durante la cetoacidosis diabética, se agrega la producción excesiva de adrenalina, glucagon, hormona somatotrópica y cortisol.¹⁶ Se acepta que este aumento

* Académico titular. Departamento de Biología Experimental. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.

es necesario para que a su vez se incremente la formación de los llamados cuerpos cetónicos y el cuadro de cetoacidosis haga su aparición.

Otros agentes antilipolíticos no hormonales, pero existentes en prácticamente todos los tejidos del organismo, son las prostaglandinas. Su acción antilipolítica se ejerce fundamentalmente por inhibición de los efectos de estimulación adrenérgica alfa y beta ejercidos por las catecolaminas, sobre todo por la adrenalina, sobre el tejido adiposo.¹⁷ La existencia de estos receptores beta, mucho más numerosos que los alfa, en el tejido adiposo, explica a su vez los efectos antilipolíticos de los bloqueadores adrenérgicos beta como el propranolol, sobre la lipólisis originada por la adrenalina; esta circunstancia puede justificar el empleo de tales bloqueadores en algunos casos de cetoacidosis diabética.

En el presente trabajo se han estudiado los efectos lipolíticos de la adrenalina, glucagon, somatotropina bovina y cortisol, en adipocitos aislados del tejido graso epididimal de la rata, así como las acciones antagónicas de la insulina cuando se agrega conjuntamente con la hormona lipolítica en sistemas de incubación desprovistos de glucosa. Es de señalarse que cuando se comparó el grado de la lipólisis basal en adipocitos y en adipocitos a los que se añadió solamente insulina, en el mismo medio desprovisto de glucosa, pudo verse que no se produjeron cambios estadísticamente significativos en la liberación de ácidos grasos, lo que indica que en estas condiciones no se demuestra actividad lipogénica de la insulina.

Material y métodos

Se utilizaron ratas machos adultas de peso corporal entre 200 y 250 gramos, provenientes del criadero del Instituto de Biología (UNAM). Fueron alimentadas con *Purina* y agua natural *ad libitum* y se les mantuvo en jaulas individuales durante cuatro días, antes de ser estudiadas. Previa anestesia con éter etílico fueron muertas por fractura cervical; el tejido graso epididimal se extrajo de inmediato y se lavó con solución de cloruro de sodio al 0.9 por ciento. Después de lavado y secado con papel filtro, se le pesó y fraccionó en trozos pequeños, para ser incubados posteriormente en incubador metabólico Dubnoff a temperatura constante de 38°C durante noventa minutos, previa la adición de colagenasa bacteriana (Sigma Chem. Co.), en un medio con albúmina (Albúmina bovina fracción V de Nutritional Biochemicals Corp.), en *buffer* de bicarbonato, para la obtención de adipocitos aislados, según el procedimiento de Rodbell.¹⁸ Las suspensiones de células grasas, equivalentes en cada experimento a 0.40 de grasa epididimal, se incubaron posteriormente en

el mismo aparato durante otros noventa minutos y a la misma temperatura, previa adición de la sustancia o sustancias en estudio* a las concentraciones siguientes por matraz de incubación en volumen total de 4 ml.: adrenalina, 20 microgramos; glucagon, 20 microgramos; somatotropina bovina, 500 microgramos; succinato de cortisol, 5 microgramos, equivalentes a 3.7 microgramos del esteroide puro; insulina cristalina, 20 milionidades; propranolol, 20 microgramos.

Se midió la lipólisis basal propia de los adipocitos, la producida por la adición de la hormona lipolítica y las modificaciones que sobre esta originó la insulina al ser agregada conjuntamente con la lipolítica en estudio. Se midió, como ya se ha señalado, el cambio en la lipólisis basal propia de los adipocitos cuando fueron incubados con insulina solamente, y se cuantió, por último, el grado de inhibición ejercido por el propranolol sobre la lipólisis inducida por la adrenalina.

La magnitud de la lipólisis se apreció midiendo la cantidad de ácidos grasos no esterificados liberados al medio, por el procedimiento de Dole.¹⁹

Resultados

Los resultados se puntualizan en los cuadros 1 a 4 y en las figuras 1 y 2.

En experimentos semejantes se ha corroborado el efecto depresor que ejerce el propranolol sobre la actividad lipolítica de la adrenalina. El bloqueador beta adrenérgico la reduce en trece por ciento.

Comentarios

Las hormonas lipolíticas, que en condiciones normales regulan, conjuntamente con la insulina y las prostaglandinas, la degradación y la síntesis de los triglicéridos, se producen en exceso durante la fase crítica de las deficiencias insulínicas, o sea durante la cetoacidosis, y suman sus efectos lipolíticos a la ausencia de actividad lipogénica explicable por la deficiente acción insulínica, permitiendo así que aparezca el cuadro patológico.

La adrenalina es la hormona con mayor actividad lipolítica; tal función se explica por la estimulación que ejerce sobre la formación de la adenilciclase, enzima que cataliza la biosíntesis, a partir del trifosfato de adenosina (ATP), del 3'5' monofosfato cíclico de adenosina. Este nucleótido, por intermedio de la proteinquinasa que de él depende, activa a las enzimas lipolíticas existentes en el tejido adiposo. La insulina se opone a la formación del monofosfato cíclico y este efecto se traduce, además, por activación de enzimas lipogénicas. Cuando se bloquean los receptores beta existentes en el tejido adiposo se llega al mismo resultado, es decir, se inhibe la lipólisis adrenalínica. Este efecto se obtiene, bien sea con sustancias integrantes de la propia célula como son las pros-

* Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo.

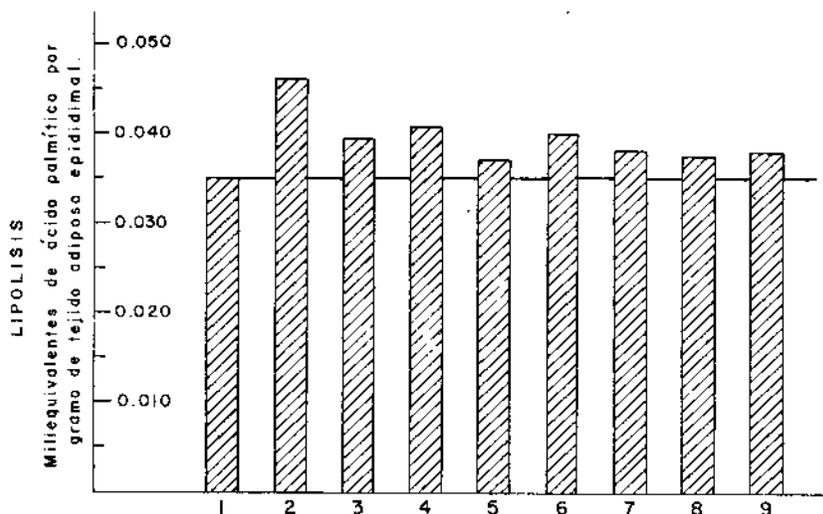


Fig. 1. Actividad lipolítica de diversas hormonas.

1. Adipocitos incubados durante noventa minutos a 30°C.
2. Adipocitos incubados en igual forma con adición de 20 microgramos de adrenalina.
3. Adipocitos incubados con 20 microgramos de adrenalina más 20 miliunidades de insulina cristalina.
4. Adipocitos incubados con 20 microgramos de glucagon.
5. Adipocitos incubados con 20 microgramos de glucagon más 20 miliunidades de insulina.
6. Adipocitos incubados con 500 microgramos de somatotropina bovina.
7. Adipocitos incubados con 500 microgramos de somatotropina bovina más 20 miliunidades de insulina.
8. Adipocitos incubados con 3.7 microgramos de cortisol.
9. Adipocitos incubados con 3.7 microgramos de cortisol más 20 miliunidades de insulina.

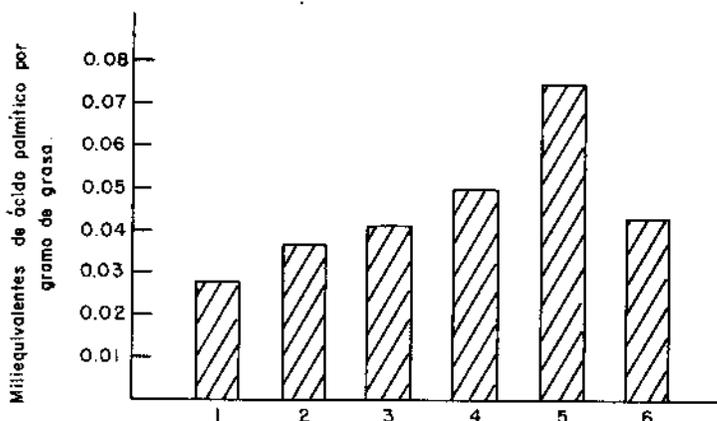


Fig. 2. Influencias hormonales sobre la lipólisis basal en adipocitos aislados del tejido graso del epidídimo de rata.

1. Adipocitos sin incubar.
2. Adipocitos incubados durante cuatro horas sin adición de substancia alguna.
3. Adipocitos incubados durante cuatro horas, previa adición de cinco microgramos de succinato de cortisol.
4. Adipocitos incubados durante cuatro horas, previo agregado al medio de dos micromolas de 3'5' monofosfato cíclico de adenosina (MCA).
5. Adipocitos preincubados durante tres horas con cinco microgramos de succinato de cortisol. Adición posterior de dos micromolas de MCA e incubación durante sesenta minutos.
6. Adipocitos preincubados durante tres horas, previa adición de cinco microgramos de succinato de cortisol y de un miligramo de dihidroclorhidrato de puromicina. Adición posterior de dos micromolas de monofosfato cíclico de adenosina e incubación durante sesenta minutos.

Cuadro 1. Efectos de la adrenalina y de la insulina agregada a la catecolamina sobre la lipólisis basal en adipocitos aislados del tejido graso epididimal de la rata. Adrenalina, 20 microgramos. Insulina, 20 mil unidades en volumen total de 4 ml. Incubación, 90 minutos a 38°C. La lipólisis se expresa como miliequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa.

Adipocitos	Adipocitos más adrenalina	Adipocitos más adrenalina más insulina
0.036	0.048	0.042
0.035	0.040	0.036
0.034	0.047	0.038
0.032	0.047	0.037
0.034	0.049	0.039
0.035	0.047	0.042
0.033	0.041	0.035
0.032	0.048	0.042
0.032	0.050	0.037
0.039	0.043	0.039
Promedio 0.034	Promedio 0.046	Promedio 0.039
Desv. de la media 0.002	Desv. de la media 0.003	Desv. de la media 0.002
Actividad: 100%	Actividad: 135%	Actividad: 115%

Cuadro 2. Efectos del glucagon y de la insulina agregada al glucagon sobre la lipólisis basal en adipocitos aislados del tejido graso epididimal de la rata. Glucagon, 20 microgramos. Insulina cristalina 20 mil unidades. Volumen total 4 ml. Incubación durante 90 minutos a 38°C. Adipocitos correspondientes a 0.40 g. de grasa. La lipólisis se expresa como miliequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa.

Adipocitos más glucagon	Adipocitos más glucagon más insulina
0.043	0.036
0.039	0.037
0.038	0.038
0.040	0.037
0.043	0.036
0.040	0.037
0.042	0.038
0.039	0.039
0.041	0.038
0.041	0.037
Promedio 0.041	Promedio 0.037
Desv. de la media 0.002	Desv. de la media 0.001
Actividad 120%	Actividad 110%

Cuadro 3. Efectos de la somatotropina bovina y de la insulina agregada a la somatotropina sobre la lipólisis basal en adipocitos aislados del tejido graso epididimal de la rata. Somatotropina, 500 microgramos insulina cristalina, 20 mil unidades. Volumen total de incubación, 4 ml. Incubación durante 90 minutos 38°C. Adipocitos correspondientes a 0.40 g. de grasa. La lipólisis se expresa como miliequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa.

Adipocitos más somatotropina	Adipocitos más somatotropina más insulina
0.034	0.035
0.039	0.038
0.042	0.040
0.038	0.039
0.038	0.034
0.040	0.038
0.041	0.039
0.043	0.038
0.040	0.037
0.041	0.038
Promedio 0.040	Promedio 0.038
Desv. de la media 0.003	Desv. de la media 0.002
Actividad 117%	Actividad 110%

Cuadro 4. Efectos del cortisol y de la insulina agregada al cortisol sobre la lipólisis basal en adipocitos aislados del tejido graso epididimal de la rata. Dihidrosuccinato de cortisol, 5 microgramos, equivalentes a 3.7 microgramos del esteroide puro. Insulina cristalina, 20 mili-unidades. Volumen total de incubación 4 ml. Incubación durante 90 minutos a 38°C. Adipocitos correspondientes a 0.40 g. de grasa. La lipólisis se expresa como miliequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa.

Adipocitos más cortisol		Adipocitos más cortisol más insulina	
0.038		0.036	
0.036		0.038	
0.039		0.037	
0.036		0.037	
0.036		0.039	
0.037		0.037	
0.038		0.039	
0.035		0.038	
0.038		0.039	
0.037		0.038	
Promedio	0.037	Promedio	0.038
Desv. de la media	0.001	Desv. de la media	0.001
Actividad	100%	Actividad	110%

taglandinas, o bien con fármacos, que como el propranolol y otros, bloquean específicamente, al igual que las prostaglandinas, a los receptores beta e impiden así el efecto lipolítico de las catecolaminas.^{17; 20-23} Esta actividad lipolítica es la que se manifiesta al máximo cuando se le estudia en los adipocitos aislados y es también la que es bloqueada en mayor grado por la insulina.

Las actividades lipolíticas del glucagon y de la somatotropina se explican por mecanismos semejantes, es decir, por estimulación de la biosíntesis del monofosfato cíclico de adenosina, impedida, a su vez, por la insulina. A pesar de su menor influencia sobre la lipólisis, si se le compara con la ejercida por la adrenalina, la lipólisis estimulada por el glucagon y por la somatotropina, hormonas cetogénicas ambas, es importante desde el punto de vista patológico; dicha lipólisis, además es contrarrestada por la insulina en forma menos notable a lo encontrado en el caso de la adrenalina.

Es de señalarse que la adición de insulina a la hormona lipolítica en estudio en sistemas de incubación carente de glucosa, revela directamente el efecto inhibitorio de la hormona pancreática sobre la actividad lipolítica, porque en estas condiciones la lipogénesis insulínica no puede manifestarse por la falta del precursor necesario para la formación del cuerpo graso.

La lipólisis inducida por el cortisol *in vitro*, es de baja magnitud y la acción inhibitoria de la insulina no se pudo demostrar. Experimentalmente se

ha visto que los efectos fisiológicos de los glucocorticosteroides no son mediados por el 3'5' monofosfato cíclico de adenosina, porque son incapaces de activar al sistema adenilciclasa y de dar lugar así a la biosíntesis del nucleótido.²⁴⁻²⁶ Esta circunstancia podría explicar la menor actividad de estas hormonas sobre la lipólisis basal.

REFERENCIAS

1. Spirowski, M.Z.; Kovacev, V.P.; Spasovska, M. y Chernick, S.S.: *Effect of ACTH on lipolysis in adipose tissue of normal and Adrenalectomized rats in vivo*. Amer. J. Physiol. 228: 382, 1975.
2. Ramachandran, J.; Farmer, S.W.; Liles, S. y Lid, C.H.: *Comparison of the steroidogenic and melanotropic activities of corticotropin, alfa melanotropin and analogs with their lipolytic activities on rat and rabbit adipocytes*. Biochim. Biophys. Acta 428: 347, 1976.
3. Ramachandran, J. y Lee, V.: *Divergent effects of adrenocorticotropin and melanotropin on isolated rat and rabbit adipocytes*. Biochim. Biophys. Acta 428: 339, 1976.
4. Bonnet, F.; Vanderschueren Lodeweyckx, M.; Eckels, R. y Malvaux, P.: *Subcutaneous adipose tissue and lipids in blood in growth hormone deficiency before and after treatment with human growth hormone*. Pediatr. Res. 8: 800, 1974.
5. Mersham, H.J.; Brown, L.J.; Underwood, M.C. y Stanton, M.C.: *Catecholamine induced lipolysis in swine*. Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem. 47: 263, 1974.
6. Lamberts, S.W.J.; Timmermans, H.A.T.; Kramer-Blankestijn, M. y Birkenhager, J.C.: *The mechanism of the potentiating effect of glucocorticoids on catecholamine induced lipolysis*. Metabolism 24: 681, 1975.
7. Ratzmann, K.P.; Paul, L.; Meyer, L.W. y Mueller, F.: *Studies on lipid mobilization during adiposity without carbohydrate intolerance. I. Novadrenaline stimulated lipolysis*. Endokrinologie 66: 337, 1976.
8. Fain, J.N.; Scow, R.O. y Chernick, S.S.: *Effects of glucocorticoids on metabolism of adipose tissue in vitro*. J. Biol. Chem. 238: 54, 1963.
9. De Gasquet, P.; Pequignot-Planche, E.; Tonnu, N.T. y Disby, F.A.: *Effect of glucocorticoids on lipoprotein lipase activity in rat heart and adipose tissue*. Horm. Metab. Res. 7: 152, 1975.
10. Llamas, R.: *Efectos comparativos de la L-3'3'5' triyodotironina sobre la actividad de la glucosa-6-fosfatasa en el hígado y en el tejido adiposo epididimal de la rata*. GAC. MED. MEX. 113: 533, 1977.
11. Reckless, J.P.D.; Gilbert, C.H. y Galton, D.J.: *Alpha adrenergic receptor activity and lipolysis in adipose tissue of hypothyroid man and rat*. J. Endocrinol. 68: 419, 1976.
12. Hemon, P.: *Some aspects of rat metabolism in the brown adipose tissue of normal and hypothyroid rats during early postnatal development*. Biol. Neonat. 28: 241, 1976.
13. Cahill, G.E.: *Physiology of insulin in man*. Diabetes 20: 785, 1971.
14. Schade, D.S. y Eaton, E.P.: *Insulin secretion by perfused islets from obese Zucker rats*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 149: 311, 1975.
15. Loten, E.G.; Le marchand, F. y Jeanrenaud, B.: *Does hyperinsulinism in ob/ob mice cause an insulin stimulated adipose tissue?* Amer. J. Physiol. 230: 602, 1976.
16. Schade, D.S. y Eaton, R.P.: *The controversy concerning counter-regulatory hormone secretion. A hypothesis for the prevention of diabetic ketoacidosis*. Diabetes 26: 596, 1977.
17. Efendic, S.: *Influence of prostaglandin E₁ on lipolysis*

- induced by noradrenaline, isopropylnoradrenaline, teophylline and dibutyl cAMP in human omental adipose tissue in vitro. *Acta Med. Scand.* 187: 503, 1970.
18. Rodbell, M.M.: *Metabolism of isolated fat cells. I. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis.* *J. Biol. Chem.* 239: 375, 1964.
 19. Dole, V.P.: *A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose.* *J. Clin. Invest.* 35: 150, 1956.
 20. Schimmel, R.: *Adenosine 3'5' cyclic monophosphate in adipose tissue of diabetic rats.* *Biochim. Biophys. Acta.* 451: 363, 1976.
 21. Shikama, H. y Vimichio, O.: *Attenuation of epinephrine induced increase in liver cyclic AMP by endogenous insulin in vivo.* *Biochim. Biophys. Acta.* 444: 461, 1976.
 22. Schimmel, R.J.: *Inhibition of free fatty acid mobilization by colchicine.* *J. Lipid Res.* 15: 206, 1974.
 23. Ostman, J. y Efendil, S.: *Catecholamines and metabolism of human adipose tissue. II. Effect of isopropilnoradrenaline and adrenergic blockin agents on lipolysis in human omental adipose tissue in vitro.* *Acta Med. Scand.* 187: 471, 1970.
 24. Granner, D.K.; Chase, L.R. y Aurbacha, G.D.: *Tyrosine aminotransferase: enzyme induction independent of adenosine 3'5' monophosphate.* *Science* 162: 1018, 1968.
 25. Major, P.W. y Kilpatrick, R.: *Cyclic AMP and hormone action.* *J. Endocrinol.* 54: 593, 1972.
 26. Barnett, C.A. y Wicks, W.D.: *Regulation of phosphoenolpyruvate, carboxykinase and tyrosine transaminase in hepatoma cell cultures. I. Effects of gluco corticoids, 5N2 O2 dibutyladenosine 3'5' monophosphate and insulin in Reuber H35 cells.* *J. Biol. Chem.* 245: 7201, 1971.

