

El peróxido de hidrógeno, segundo mensajero de las acciones insulínicas sobre el metabolismo de la glucosa y de los cuerpos grasos en el tejido adiposo. Sus efectos sobre la lipólisis adrenalínica

ROBERTO LLAMAS*

Se ha demostrado, en diversas investigaciones, que sustancias de distinta naturaleza química reproducen las acciones insulínicas sobre el metabolismo de la glucosa y de los cuerpos grasos en el tejido adiposo. Todas ellas tienen en común la propiedad de generar moléculas de peróxido de hidrógeno. La insulina ejerce el mismo efecto. Se acepta que el peróxido de hidrógeno es el segundo mensajero de estos efectos insulínicos. El H₂O₂, además, inhibe la lipólisis estimulada por el monofosfato cíclico de adenosina y por la adrenalina, bien sea sola o en presencia de trifosfato de adenosina. El efecto depresor del peróxido de hidrógeno sobre la lipólisis adrenalínica es explicable, muy probablemente, por la oxidación de la hormona, lo que conduce, en condiciones fisiológicas, a la regulación de sus funciones.

CLAVES: Lipólisis adrenalínica, peróxido de hidrógeno, acción insulínica, glucosa.

Algunas de las más importantes funciones fisiológicas de la insulina, como son las que ejerce sobre el metabolismo de la glucosa en el tejido adiposo al estimular su transporte y oxidación, así como sus propiedades de hormona lipogénica y antilipolítica, son reproducidas por algunas sustancias de distinta naturaleza química por mecanismo semejante, cuyo conocimiento ha servido para conocer aún mejor las influencias de un segundo mensajero sobre las acciones de la hormona.

Entre los agentes que reproducen los efectos insulínicos se encuentran los tioles, las poliaminas espermina y espermidina, la concanavalina A y los derivados de la agmatina, estudiados, estos últimos, por Pfeiffer y col.¹

Investigaciones de Czech y col.² han demostrado que los tioles ejercen tales efectos en el tejido adiposo epididimario de la rata, lo cual es debido, al decir de los autores, a la presencia del ión Cu²⁺, un contaminante de la fracción V de la albúmina de suero bovino utilizada en los procedimientos de incubación del tejido adiposo con los tioles. La reacción de estos con el ión Cu²⁺ y con O₂ origina, por vía no enzimática, la formación de moléculas de peróxido de hidrógeno, compuesto directamente responsable de las acciones de tipo insulínico sobre la glucosa, en este caso su oxidación, así como la inhibición de la lipólisis. Estos efectos del peróxido desaparecen en

Recibido: 11 de enero de 1984.

Aceptado: 31 de enero de 1984.

* Académica titular, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.

presencia de catalasa, debido a que esta enzima lo convierte en agua y oxígeno molecular. Por otra parte, y como comprobación adicional de esta propiedad del peróxido, se ha visto que concentraciones pequeñas del mismo, del orden de las diez micromolas, estimulan directamente el metabolismo de la glucosa hacia la formación de CO_2 y de cuerpos grasos cuando se incuban con tejido adiposo. En otros estudios semejantes se ha demostrado que tioles de bajo peso molecular como el ditioeritritol estimulan el transporte de la 2-desoxiglucosa y el metabolismo de la glucosa a CO_2 y formación de lípidos cuando se incuban con adipocitos y albúmina dializada. Estos efectos son impedidos, a su vez, por la catalasa.⁵

Los trabajos de Livingston y col.⁶ han demostrado que cuando las poliaminas espermina y espermidina se incuban con amortiguador Krebs-Ringer de fosfato en presencia de la misma fracción V de albúmina de suero bovino, se generan moléculas de peróxido de hidrógeno por la desaminación oxidativa de esas poliaminas, debido a la existencia, como contaminante de la albúmina bovina, de una esperminooxidasa. Los efectos de tipo insulínico de las poliaminas en el tejido adiposo son el estímulo en el transporte de la glucosa y la inhibición de la lipólisis estimulada por el monofosfato cíclico de adenosina. Se concluye que las poliaminas reproducen las acciones metabólicas de la insulina no por sí mismas, sino por el peróxido de hidrógeno que en estas condiciones son capaces de generar.

En otra serie de investigaciones tan importantes o aun más importantes que las anteriores, se ha estudiado la formación enzimática de peróxido de hidrógeno en el tejido adiposo por influencia de la insulina y de la concanavalina A; según señala Mukherjee,⁵ ambos agentes, al ser incubados con adipocitos de rata, activan a una piridinnucleótido oxidasa existente en la parte interna de la membrana celular, lo que genera moléculas de peróxido de hidrógeno. Existe evidencia experimental de que el peróxido es utilizado intracelularmente mediante

reacciones en las que intervienen la glutatión peroxidasa y la catalasa, lo que se acopla con el metabolismo de la glucosa por la vía oxidativa del fosfato de pentosa, que como es bien sabido no solamente permite el aprovechamiento de la energía contenida en la glucosa y su participación en el ciclo del ácido cítrico, sino que también favorece en forma importante a la lipogénesis por la formación colateral de NADPH.

El efecto de la insulina y el de sustancias que reproducen sus acciones metabólicas sobre la glucosa y cuerpos grasos en el tejido adiposo ha sido estudiado en otra enzima, la piruvato deshidrogenasa. Taylor y col.⁶ han demostrado que la incubación de fragmentos de tejido adiposo con insulina eleva sensiblemente la actividad de la enzima. Otras sustancias de efectos antilipolíticos como son la prostaglandina E_1 y la niacina actúan en la misma forma. Los trabajos de Mukherjee y col.⁷ señalan que la concanavalina A, una de las sustancias que más ostensiblemente reproducen los efectos fisiológicos de la insulina sobre el transporte y oxidación de la glucosa en los adipocitos, aumenta la concentración de la forma activa de la piruvato deshidrogenasa mitocondrial en las células grasas en forma aún más notable que la ejercida por la propia insulina.

La activación de la piruvato deshidrogenasa por la insulina o por la concanavalina A es mediada, según Jarett y Kiechle,⁸ por la formación inicial de un material de bajo peso molecular estable en medio ácido que ha sido aislado de los adipocitos; este material estimula directamente la actividad de aquella enzima. La evidencia inicial acerca de la existencia de este mediador fue el hallazgo de que la adición de insulina a un sistema formado por membranas y mitocondrias de adipocitos de rata origina descenso en la fosforilación de la subunidad alfa de la piruvato deshidrogenasa mitocondrial. La concanavalina A ejerce el mismo efecto. En relación con lo anterior, Popp y col.⁹ encuentran que la adición de insulina o de concanavalina A a mezcla de membra-

Cuadro 1. Efectos del monofosfato cíclico de adenosina (MCA) (2 micromolas) y del peróxido de hidrógeno (30 micromolas) sobre la actividad lipolítica del tejido adiposo epididimario de la rata.

Lipólisis basal (10)	Lipólisis más MCA (10)	Lipólisis más MCA más H_2O_2 (10)
0,036	0.043	0.038
Desv. Est. 0.003	0.004	0.004
Actividad 100%	119%	106%

La actividad lipolítica se expresa como miliequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa.

nas y mitocondrias de adipocitos de rata estimula la actividad de la piruvato deshidrogenasa debido a que el mediador químico activa inicialmente a la piruvato deshidrogenasa fosfatasa, sin inhibir a la piruvato deshidrogenasa quinasa; al desfosforilarse, la enzima se convierte en la forma activa.

La existencia de este agente químico intermedio ha motivado diversas investigaciones: Seals y Czech¹⁰ encuentran que el liberado de las membranas celulares de adipocitos en respuesta a la insulina tiene peso molecular entre 2 000 y 4 000 daltons. Kiechl y col.¹¹ han logrado la purificación parcial de este mediador químico. Saltiel y col.,¹² además, han demostrado que la insulina estimula la liberación, de membranas de células hepáticas, de un modulador químico de la piruvato deshidrogenasa cuyo peso molecular es de 1 000 a 2 000 daltons. Lo consideran similar al originado por la insulina en otros tejidos que responden a las acciones de esta hormona.

La piruvato deshidrogenasa es una enzima mitocondrial que actúa como factor limitante en la biosíntesis de ácidos grasos; es un activador de las vías metabólicas lipogénicas, propiedades fisiológicas de la insulina. Su principal función parece ser, en el tejido adiposo, la formación de moléculas de acetil coenzima A, necesarias para la biosíntesis de ácidos grasos.

El cambio de la forma inactiva a la activa de la piruvato deshidrogenasa por el mecanismo descrito con anterioridad, se atribuye al peróxido de hidrógeno generado por la insulina, la concanavalina A o por algún otro agente de comportamiento semejante sobre el metabolismo de la glucosa y de los cuerpos grasos en el tejido adiposo.

Por lo tanto, la acción de la insulina y de las sustancias que reproducen sus efectos en el tejido graso, es la formación de moléculas de peróxido de hidrógeno, una de cuyas funciones es la de permitir el metabolismo de la glucosa por la vía oxidativa del fosfato de pentosa y la otra la de favorecer la lipogénesis, por esta misma vía, y sobre todo, por la activación de la piruvato deshidrogenasa.

Ciaraldi y Olefsky¹³ han estudiado, comparativamente, el efecto de la insulina, del peróxido de hidrógeno y de la espermina sobre el transporte de la glucosa en los adipocitos: las tres sustancias lo estimulan de siete a diez veces. La insulina fue la más activa.

El peróxido de hidrógeno endógeno parece llenar los requisitos necesarios para considerarlo como el segundo mensajero de las acciones insulínicas sobre el metabolismo de la glucosa y de los cuerpos grasos en el tejido adiposo.

En este trabajo se han estudiado algunas modalidades del efecto antilipolítico del peróxido de hidrógeno en el tejido adiposo. Sobre todo en lo que se refiere a su acción sobre la lipólisis adrenalínica.

La adrenalina incrementa la lipólisis basal porque previamente estimula la actividad de la adenilato ciclasa, enzima que forma moléculas de monofosfato cíclico de adenosina a partir del trifosfato de adenosina o ATP. El monofosfato cíclico activa a las enzimas lipolíticas y es, por lo tanto, el responsable directo de la lipólisis.

En un trabajo anterior¹⁴ hemos visto que el ATP no estimula directamente la lipólisis en el tejido adiposo, pero sí la inducida por adrenalina; esto se explica por la activación de la adenilato ciclasa por la adrenalina, lo que permite la formación mayor de monofosfato cíclico de adenosina cuando existe cantidad mayor de su precursor o sea de ATP.

Material y métodos

La lipólisis se estudió en el tejido graso epididimario de ratas blancas adultas amablemente facilitadas por el bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, según métodos señalados con anterioridad.¹⁴ La concentración de las sustancias utilizadas se anota en los cuadros respectivos. Ellas son: DL epinefrina (Sigma Chem. Co.); adenosina 5 trifosfato, sal sódica de músculo equino (Sigma Chem. Co.); adenosina

Cuadro 2. Influencias de la adrenalina (20 microgramos) y del peróxido de hidrógeno (30 micromolas) sobre la actividad lipolítica del tejido adiposo epididimario de la rata. La actividad se expresa como miliequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa.

Lipólisis basal (10)	Lipólisis más adrenalina (10)	Lipólisis más adrenalina más H ₂ O ₂ (10)
0.036	0.046	0.038
Desv. Est. 0.003	0.004	0.004
Actividad 100%	128%	106%

Cuadro 3. Efectos de la adrenalina (20 microgramos) del trifosfato de adenosina (2 micromol) y del peróxido de hidrógeno (30 micromol) sobre la actividad lipolítica del tejido adiposo epididimario de la rata. La actividad se expresa como miliequivalentes de ácido palmítico por gramo de grasa.

Lipólisis basal	Lipólisis más adrenalina	Lipólisis más adrenalina más ATP	Lipólisis más adrenalina más ATP más H ₂ O ₂
(10)	(10)	(10)	(10)
0.036	0.046	0.050	0.040
Desv. Est. 0.003	0.004	0.006	0.005
Actividad 100%	128%	139%	111%

3'5' ácido monofosfórico (Sigma Chem. Co.); peróxido de hidrógeno al 30% (Baker).

Resultados

Los resultados se especifican en los cuadros respectivos.

Comentarios

Se corrobora la depresión que sobre la lipólisis estimulada por el monofosfato cíclico de adenosina en el tejido adiposo ejerce el peróxido de hidrógeno.

La lipólisis adrenalínica es inhibida en forma semejante, bien sea cuando la catecolamina actúa sola o en presencia de trifosfato de adenosina.

El mecanismo íntimo de la depresión que el peróxido de hidrógeno ejerce sobre la actividad lipolítica del monofosfato de adenosina no ha sido especificado.

El efecto inhibitorio del mismo peróxido sobre la lipólisis adrenalínica es explicable, muy probablemente, por la oxidación de la hormona, lo que conduce, en condiciones fisiológicas, a la regulación de sus funciones.

REFERENCIAS

- Pfeiffer, B.; Sarrazin, W. y Weitzel, G.: *Insulin-like effect of agmatine derivatives in vitro and in vivo*. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 362: 1331, 1981.
- Czech, M.P.; Lawrence, J.C. y Lynn, W.S.: *Evidence for electron transfer reactions involved in the Cu²⁺ dependent thiol activation of cells glucose utilization*. J. Biol. Chem. 249: 1001, 1974.
- May, J.M.: *The insulin-like effects of low molecular weight thiols. Role of trace metal contamination of commercial thiols*. Horm. Metab. Res. 12: 587, 1980.
- Livingston, J.N.; Gurny, P.A. y Lackwood, D.H.: *Insulin-like effects of polyamines in fat cells. Mediation by H₂O₂ formation*. J. Biol. Chem. 252: 560, 1977.
- Mukherjee, S.P.: *Mediation of the antilipolytic and lipogenic effects of insulin in adipocytes by intracellular accumulation of hydrogen peroxide*. Biochem. Pharmacol. 29: 1249, 1980.
- Taylor, S.L.; Mukherjee, C. y Jungas, R.L.: *Studies on the mechanism of activation of adipose tissue pyruvate dehydrogenase by insulin*. J. Biol. Chem. 248: 73, 1973.
- Mukherjee, S.P.; Mukherjee, C. y Lynn, W.S.: *Activation of pyruvate dehydrogenase in rat adipocytes by concanavaline A. Evidence for insulin-like effect mediated by hydrogen peroxide*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 93: 36, 1980.
- Jarett, L.; Kiechle, F.S.; Popp, D.A.; Kotagal, N. y Gavin, J.R.: *Differences in the effect of insulin on the generation by adipocytes and IM lymphocytes of a chemical mediator which stimulates the action of insulin on pyruvate dehydrogenase*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 96: 735, 1980.
- Popp, D.A.; Kiechle, F.L.; Kotagal, N. y Jarett, L.: *Insulin stimulation of pyruvate dehydrogenase in an isolated plasma membranes-mitochondrial mixture occurs by activation of pyruvate dehydrogenase phosphatase*. J. Biol. Chem. 253: 7540, 1980.
- Seals, J.R. y Czech, M.P.: *Characterization of a pyruvate dehydrogenase activator released by adipocyte plasma membranes in response to insulin*. J. Biol. Chem. 256: 2894, 1981.
- Kiechle, P.L.; Jarett, L.; Kotagal, N. y Popp, D.A.: *Partial purification from adipocyte plasma membranes of a chemical mediator which stimulates the action of insulin on pyruvate dehydrogenase*. J. Biol. Chem. 256: 2945, 1981.
- Saltiel, A.; Jacobs, S.; Siegel, M. y Cuatrecasas, P.: *Insulin stimulates the release from liver plasma membranes of a chemical modulator of pyruvate dehydrogenase*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 102: 1031, 1981.
- Ciaraldi, T.P. y Olefsky, J.M.: *Comparison of the effects of insulin and hydrogen peroxide on adipocyte glucose transport*. J. Cell Physiol. 110: 323, 1982.
- 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 epididimario de la rata*. GAC. MED. MEX. 113: 539, 1977.