

Cátedra de Fisiología Animal
Facultad de Farmacia de Madrid y Sección de Fisiología Química
Departamento de Bioquímica del
Instituto Español de Fisiología y Bioquímica
(Prof. J. Lucas Gallego)

Influencia hormonal sobre lipólisis en intestino

por

R. Muñoz-Calvo, R. Cosín-García y J. Lucas-Gallego

(Recibido para publicar el 14 de febrero de 1968)

La fisiología del sistema adiposo se puede sistematizar en tres funciones principales (10, 17): la primera comprende la síntesis de los ácidos grasos en largas cadenas a partir de numerosos estratos. La segunda consiste en la puesta en reserva de ácidos grasos bajo la forma de triglicéridos en la gran vacuola del adipocito. La tercera es la función lipolítica gracias a la cual los triglicéridos se hidrolizan en ácidos grasos libres y glicerol que se liberan en la corriente sanguínea.

La función lipolítica es primordial porque los ácidos grasos libres se utilizan directamente por los tejidos como fuente de energía. Esta utilización tiene lugar constantemente, pero es particularmente intensa cuando el metabolismo de los hidratos de carbono se perturba como en la diabetes o en el ayuno.

Las hormonas que actúan sobre el tejido adiposo se dividen en dos grupos: el grupo de hormonas lipogénicas que comprende sobre todo la insulina y accesoriamente la prolactina, y el gran grupo de las hormonas lipolíticas que comprende las hormonas hipofisarias (ACTH-TSH-MSH) catecolaminas (adrenalina y nora-

drenalina), el glucagón y otros factores lipolíticos. En el tejido adiposo existen dos puntos óptimos de control metabólico y es en estos puntos donde las hormonas lipogénicas y lipolíticas ejercen su acción.

El primer punto se sitúa al nivel de la transformación de la glucosa extracelular en glucosa-6-fosfato intracelular según un mecanismo todavía indeterminado. Este punto regula el aporte glucosado a la célula adiposa y al mismo tiempo la lipogénesis; es a este nivel cuando actúa la insulina.

El segundo punto de control se sitúa al nivel de la hidrólisis de triglicéridos. Es aquí donde parece actuar la mayor parte de las hormonas lipolíticas. En el caso de las hormonas hipofisarias, catecolaminas y glucagón, el punto de impacto parece ser el de activación por un mecanismo indeterminado de lipasas específicas que favorecen la hidrólisis de los triglicéridos. La analogía de los efectos producidos por las catecolaminas y por las hormonas hipofisarias es sorprendente cuando se considera su estructura química respectiva y es muy posible que su mecanismo íntimo de acción sea diferente. Las catecolaminas tie-

nen verdaderamente una acción lipolítica directa (9), en cambio las experiencias de SHAFRIR y colaboradores (19) muestran que cuando se inyecta adrenalina a un perro privado de las suprarrenales no se observa elevación de ácidos grasos plasmáticos, en contra de la manifestación clásica de la acción lipolítica de la adrenalina. Si se trata con cortisona y se repite la experiencia, la adrenalina ejerce su acción lipolítica y se eleva el nivel de los ácidos grasos libres. Esto indica claramente que la parte medular y la parte cortical en la suprarrenal son esenciales en la movilización de los ácidos grasos y se sugiere que la cortisona facilita por un mecanismo indeterminado el efecto de la adrenalina.

Los glucocorticoides tienen una acción sobre el metabolismo de la célula adiposa y sus efectos son: *a*) disminución de la incorporación de la glucosa, disminución de la oxidación de glucosa en CO_2 y de la lipogénesis a partir de la glucosa; *b*) aceleración de la lipólisis por lo que resulta una movilización de ácidos grasos libres hacia la periferia.

La acción primaria de estas hormonas es la hidrólisis de triglicéridos en ácidos grasos durante la lipólisis. La acumulación de ácidos grasos libres intracelulares inhiben secundariamente el metabolismo de la glucosa.

Como han demostrado HANSHEYER (6), VINEGRAND (20) y WHITE (21), las hormonas afectan el metabolismo de los ácidos grasos cuando se dan al animal o se añaden al tejido superviviente.

Material y métodos

Las pruebas lipolíticas se han realizado únicamente en intestino, dado que en el tejido adiposo ha sido comprobado por distintos autores.

Las pruebas se han realizado *in vitro* por su sencillez técnica, ya que el tejido no se disgrega si se extirpa con técnica cuidadosa y además las pruebas sometidas a experimentos de corta duración, no so-

brepasando los 90 minutos, son suficientes puesto que a las dosis empleadas de sustratos y hormonas el tejido no tiene lesiones carenciales.

Para la determinación de los ácidos grasos nos hemos basado en el método de DOLE (4) y en el de LECOG (12). Teniendo en cuenta ambas metódicas hemos seguido la siguiente técnica: las distintas muestras se pesan en frasco y se hace un homogenato en un potter y se extrae la grasa con la mezcla Dole. La titulación se hace siguiendo la técnica de LECOG.

Como los resultados se expresan en mg de peso de proteína tisular, para la determinación de éstas se sigue el método de LOWRY (13).

Como animal de experimentación se han utilizado ratas de peso comprendido entre 175 y 275 gramos.

El intestino se lava con Tirode, se secciona longitudinalmente y se toman pesos semejantes. Seguidamente los ponemos en vasos y se someten a incubación a 37° en un medio formado por una emulsión de tributirina en Tirode (0,2 cc de tributirina en 40 cc de Tirode) con un pH resultante de 6,5. Se sacan muestras a los 5, 15, 30 y 45 minutos y se determinan los ácidos grasos.

Se ha estudiado la acción lipolítica en el intestino de rata consecutivamente a la administración de: ACTH (10 U.I./ 3 cc); hormona somatotropa (20 mg/cc, equivalentes a 20 unidades Evans); adrenalina (20 $\mu\text{g}/\text{cc}$), y de hidrocortisona (0,02 gramos/centímetro cúbico).

Resultados

Los resultados obtenidos se representan en las tablas I y II. Con los datos correspondientes a peso fresco (g) y a la relación ácidos grasos/mg proteínas se obtiene la gráfica I en la que se aprecia la lipólisis en relación con el tiempo y la hormona empleada. A la vista de dicha gráfica se observa:

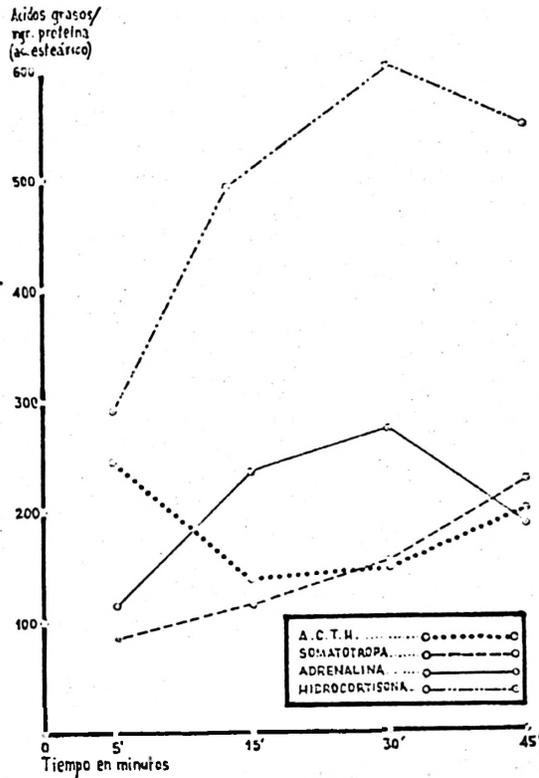


FIG. 1. Influencia hormonal sobre la lipólisis del intestino de rata.

Adición de ACTH. La liberación de ácidos grasos del tejido adiposo *in vitro* se aumenta. *In vivo* también existe un aumento por elevación de la neoglucogenia o glucogenolisis y al mayor número de disponibilidades de glucosa en los tejidos periféricos. En cuanto al *intestino* observamos una cierta liberación de ácidos grasos en el tiempo comprendido entre 30 y 45 minutos que nos apoya la idea de que esta hormona añadida *in vitro* eleva la lipólisis. Ahora bien, en el intestino la lipólisis es algo menor, lo que se puede atribuir a que sobre la lipasa monoglicérida intestinal el efecto del ACTH es menor.

Adición de hormona somatotropa. Esta hormona aumenta la tasa de ácidos gra-

TABLA I
Influencia del A.C.T.H. y de la hormona somatotropa sobre la lipólisis del intestino de rata.

Tiempo incubación (min.)	Peso fresco g	Prot. mg %	Ac. graso %	Ac. graso mg prot.
A.C.T.H.				
5	0,2836	634	0,1536	0,2418
15	0,2790	610	0,1652	0,1396
30	0,2925	570	0,0852	0,1494
45	0,2828	650	0,1704	0,2004
Hormona somatotropa				
5	0,2825	1000	0,1136	0,1135
15	0,3346	1000	0,1249	0,1156
30	0,3208	920	0,1420	0,1343
45	0,3167	1000	0,2272	0,2272

so libres. Se observa en la gráfica una lipólisis a lo largo del período de incubación entre los 5 y los 45 minutos de incubación produciéndose una recta ascendente aunque muy lentamente. Pudiera ser que esta hormona necesitase un período de incubación más largo para ejercer su acción, pero se puede hablar de actividad

TABLA II

Influencia de la adrenalina y la hidrocortisona sobre la lipólisis del intestino de rata.

Tiempo incubación (min.)	Peso fresco g	Prot. mg %	Ac. graso %	Ac. graso mg prot.
ADRENALINA				
5	0,3121	1000	0,0352	0,0352
15	0,3537	1050	0,2556	0,2366
30	0,3215	1080	0,2953	0,2734
45	0,2766	1050	0,1988	0,1893
HIDROCORTISONA				
5	0,2754	450	0,1305	0,2902
15	0,2731	460	0,2272	0,4939
30	0,2722	450	0,2726	0,6005
45	0,2741	350	0,2272	0,5491

sobre la liberación de los ácidos grasos.

Adición de adrenalina. En la gráfica se observa un aumento más precoz de la curva de ácidos grasos como consecuencia de una activación enzimática sobre la lipasa monoglicérida.

Asimismo, se produce una inhibición a los 30 minutos, posiblemente por competición con los productos de reacción. Es posible también pensar en su reesterificación en cuyo caso el enzima dejaría de estar saturado por renovación del inhibidor competitivo.

Adición de hidrocortisona. Se observa una lipólisis activa progresiva.

Discusión

Existiría un balance en el metabolismo de los ácidos grasos de tal modo que el equilibrio se establecería en extremos distintos de la célula, es decir, los ácidos grasos se oxidan para fines energéticos o se reesterificarían y vuelven a los depósitos como triglicéridos.

Este balance, a su vez, estaría sometido a otro más general: el de la glucosa. Es decir, existiría una interconexión entre los dos materiales energéticos más primarios, la glucosa y los ácidos grasos. Los balances efectuados en dos situaciones nutritivas extremas tipo, es decir, con dietas bajas en lípidos y altas en hidratos de carbono y dietas bajas en hidratos de carbono y altas en lípidos, llevaron a la conclusión de que el metabolismo de hidratos de carbono, en efecto, regula la velocidad de movilización de los ácidos grasos y la velocidad de oxidación de los lípidos.

Según HOLLENBERG (8), RIZACK (16) existen factores hormonales que estimulan el proceso lipolítico del tejido adiposo como ocurre con las catecolaminas y el glucagón.

Los autores últimamente citados, han demostrado que la hormona de crecimiento es capaz de movilizar ácidos grasos tanto *in vivo* como *in vitro*, lo que nosotros

hemos comprobado en nuestros experimentos *in vitro*. Después de una sobrecarga de glucosa se aumenta la concentración de hormona de crecimiento en el plasma y sigue aumentando en el período postabsortivo. Todas estas correlaciones hormonales y las que tienen lugar por intermedio del sistema nervioso vegetativo coadyuban a una acción de ahorro del metabolismo de la glucosa, reservándolo para las necesidades metabólicas del cerebro y sustituyendo estas acciones por una movilización de los ácidos grasos con los cuales se llenan las necesidades metabólicas del músculo, corazón y otros tejidos.

Según CONEL (3), existe una relación causal indudable entre la función del simpático y la movilización de los ácidos grasos a partir de los depósitos del tejido adiposo, como pudo demostrarse por estimulación eléctrica del simpático del epididimo, incluso *in vitro*. Hizo pensar en la existencia de un mediador químico en la estimulación del simpático, el hecho de que la respuesta se abolía por administración de reserpina o bien bloqueando la respuesta del simpático con un bloqueador adrenérgico. Así se ha comprobado (1), que el tratamiento por reserpina agotaba las reservas de los tejidos inervados de catecolaminas que eran los directamente responsables de la lipólisis de los triglicéridos (5, 22, 23). A causa de que la noradrenalina aumenta el nivel de ácidos grasos en el plasma es obligado pensar sino tendría relación con sus acciones metabólicas y los efectos cardiovasculares, ya que la droga que bloquea la acción estimulante sobre el miocardio de las catecolaminas bloquean la movilización de los ácidos grasos del tejido adiposo (14).

Se conoce desde hace mucho tiempo la acción movilizadora sobre los ácidos grasos de la noradrenalina y adrenalina (7, 18) en estudios *in vitro* y cómo a través de estas hormonas la lipasa producía lipólisis. Parece que la epinefrina ejerce su influencia sobre la liberación de ácidos grasos a través de cambiar la velocidad

de consumo de la glucosa por el tejido adiposo (2).

Nosotros hemos visto este mismo efecto de la adrenalina sobre el intestino, como se ve en la gráfica, aunque a partir de los 30 minutos sufre una inhibición.

WHITE y ENGEL (23) vieron que la corticotropina aumenta la liberación de ácidos grasos en el tejido adiposo de la rata, casi a la misma cuantía que la adrenalina. Nuestro trabajo realizado con intestino e hidrocortisona confirma estas ideas; ahora bien, nosotros observamos un gran aumento de ácidos grasos, mayor que en el caso de la adrenalina e igualmente a los 30 minutos sufre un proceso de inhibición.

Los efectos producidos *in vitro* por las hormonas han sido discutidos por HOLLENBERG (8), RIZACK (16) y MOSINGER (15), ocupándose de la hipermovilización de los ácidos grasos por ACTH, en ratas expuestas al frío o adrenalectomizadas con bloqueo ganglionar adrenérgico. En todos los casos se previene el aumento de ácidos grasos como la activación de las lipasas por ACTH. Nuestro trabajo con ACTH nos muestra ligera lipólisis precedida de una gran inhibición entre los 5 y 15 minutos.

En cuanto a la influencia de la hormona de crecimiento, su administración *in vivo* de dosis pequeñas aumenta la actividad lipolítica y aumenta la producción de ácidos grasos en los animales hipofisectomizados. Difiere en que el efecto de esta hormona es muy lento e incluso muchas veces se necesita esperar dos horas para ver el efecto. Por nosotros ha sido comprobado esta acción lipolítica de la hormona somatotropa, observándose en la gráfica una lipólisis progresiva pero lenta durante todo el tiempo de experimentación.

Los glucocorticoides tienen una acción movilizadora directa de los ácidos grasos como demostraron los trabajos de RENOL y LEBOEUF (11) y que nosotros hemos comprobado como se observa en la gráfica.

Conclusiones

El intestino puede considerarse como un tejido lipolítico activo. La adrenalina y la hidrocortisona producen lipólisis activa hasta los 30 minutos, produciendo después un proceso inhibitorio. La hormona somatotropa produce lipólisis lenta. La ACTH provoca lipólisis ligera, precedida de un período de inhibición en los primeros 15 minutos.

Resumen

En este trabajo se estudia la influencia hormonal sobre la lipólisis del intestino de rata, tejido que, al igual que el adiposo, produce liberación de ácidos grasos, en mayor o menor cuantía.

Las hormonas empleadas han sido: A.C.T.H.; somatotropa; adrenalina e hidrocortisona y se observa que las dos últimas producen una lipólisis activa hasta los 30 minutos, produciendo luego un proceso inhibitorio. La hormona somatotropa produce lipólisis lenta y el A.C.T.H. produce lipólisis rápida, pero precedida de un período de inhibición en los primeros 15 minutos.

Las pruebas han sido realizadas *in vitro* y los ácidos grasos determinados por el método de DOLE.

Summary

Hormones and Intestinal Lipolyses

In this work we study the hormonal influence on the lipolyses of the rat gut, this tissue produces equal to the adipose liberation of fatty acids in more or less quantity.

The hormones were employed ACTH, STH, adrenaline and hydrocortisone, and we have observed that these two last produce a lipolyses active up to 30 minutes, after a inhibitory process. The somatotropa hormone produced lipolyses slow and the ACTH a lipolyses quicker, but preceded by a perior of inhibition in the 15 minutes first.

The work was been realized *in vitro* and the fatty acid were determinated by the method of Dole.

Bibliografía

1. ABBOUD, N. F., WENDLING, M. G., and ECKSTEIN, J. W.: *Am. J. Physiol.*, **205**, 57, 1963.
2. ARMSTRONG, D. T., STEELE, R., ALTSZALLER, N., DUNN, A., and BODO, R.: *Am. J. Physiol.*, **201**, 535, 1961.
3. CONEL, J. W.: *Science*, **140**, 387, 1963.
4. DOLE, V. P.: *J. Clin. Invest.*, **35**, 150, 1956.
5. GORDON, R. S., CHERKES, A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **97**, 150, 1958.
6. HANSHEYER, F. K., NILSTEIN, S. W., and RUTMAN, R.: *J. Biol. Chem.*, **208**, 431, 1954.
7. HAVEL, R. J., and GOLDFIEN, A.: *J. Lip. Resear.*, **1**, 102, 1959.
8. HOLLENBERG: *Endocrinology*, **68**, 589, 1961.
9. JEANRENAUD, B.: *Hel. Medica Acta*, **50**, 1961.
10. JEANRENAUD, B.: *Metabolism*, **10**, 535, 1961.
11. LEBOEUF, B., RENOLD, A., CAHILL, G.: *J. Biol. Chem.*, **237**, 988, 1962.
12. LECOG, R.: Manual de Análisis medicales, pág. 166.
13. LOWRY OLIVER: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265, 1951.
14. MAYER, S., MORAN, N. C., and FAIN, J.: *J. Pharm. Exp. Therap.*, **134**, 18, 1962.
15. MOSINGER: *Acta Inst. Nutr. Hum. Prague*, **3**, 107, 1961.
16. RIZACK: *J. Biol. Chem.*, **236**, 657, 1961.
17. RODALL, K.: Fat a tissue, Nueva York, 1963.
18. SCHOZ, M. C., and PAGE, I. H.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **101**, 624, 1959.
19. SHAFRIR, E., y STEINBERG, D.: *J. Clin. Invest.*, **39**, 310, 1960.
20. VINEGRAND, A. I., y RENOLD, A. E.: *J. Biol. Chem.*, **233**, 267, 1958.
21. WHITE, J. E., and ENGEL, F.: *J. Clin. Invest.*, **37**, 1556, 1958.
22. WHITE, J. E., and ENGEL, F.: *Clin. Res.*, **6**, 266, 1958.
23. WHITE, J. E., and ENGEL, F.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **102**, 272, 1959.