

Efectos de los metabolitos del triptófano sobre la producción de CO₂ y el consumo de glucosa de tejido adiposo de rata *in vitro*

J. R. Vázquez de Prada

Departamento de Fisiología y Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid
Valladolid (España)

(Recibido el 16 de junio de 1973)

J. R. VAZQUEZ DE PRADA. *Effects of Tryptophan Metabolites on Glucose Uptake and Carbon Dioxide Output by the Rat Adipose Tissue in vitro*. Rev. esp. Fisiol., 29, 223-226. 1973.

Two indole acids (2×10^{-3} M) inhibited, significantly, the CO₂ output and the glucose uptake by rat adipose tissue incubated with Krebs-Ringer bicarbonate (pH 7.4) glucose plus insulin. The effects of indolacetic were greater than that of indolpyruvic. These compounds did not modify the respiratory rate of the adipose tissue incubated in Krebs-Ringer phosphate. These results are against the possibility (at least for adipose tissue) that the tryptophan metabolites prevents epinephrine-induced hyperglycemia by enhancing glucose uptake from the blood into peripheral tissues.

Los metabolitos del triptófano, principalmente el indolacético, inhiben la hiperglicemia producida por epinefrina en las ratas (3, 4). Administrados a los animales en ayunas son hipoglucemiantes salvo el indolacético, por estimular la secreción de insulina (3). Como estos dos hechos no parecen estar causalmente relacionados, como se deduce del caso del indolacético y de otras observaciones (3, 4, 5), se piensa que un posible mecanismo del efecto inhibitor de los metabolitos sea un aumento del consumo de glucosa en los tejidos periféricos. Los trabajos de algunos autores (6, 7) han aportado datos sobre las acciones de varios de estos compuestos en tejido muscular aislado. En la

presente comunicación, se describen los efectos de tres ácidos indólicos (indolacético, indolpropiónico e indolpirúvico) sobre la producción de CO₂ y el consumo de glucosa de tejido adiposo de rata incubado con insulina *in vitro*.

Material y métodos

Todos los experimentos se hicieron con ratas macho Wistar (90-120 g) alimentadas *ad libitum*. Los animales fueron sacrificados por decapitación. Se cortaron inmediatamente dos porciones de grasa epididimal, una del paquete de cada lado, se pesaron en una balanza de torsión y se colocaron en los vasos de Warburg conte-

niendo el medio apropiado. De cada animal, una porción se utilizó como control y la otra se incubó en el correspondiente metabolito.

El indol-3-acético, el indol-3-propiónico y el indol-3-pirúvico se obtuvieron de Sigma. Dado el carácter ácido en solución de estos compuestos, primero se disolvieron en Krebs-Ringer con glucosa (conc. final 10 mM) y se llevaron a pH 7,0 con NaOH 1 N, para después añadirse a la solución de bicarbonato o a la de fosfato, según se fuera a medir la producción de CO₂ o el consumo de O₂. En ambos casos se incorporó a los medios de incubación insulina (Leo) (conc. final 10⁵ μ U/ml). El medio de los controles se preparó de una manera similar. El Krebs-Ringer bicarbonato se gasó luego con carbógeno (5 % CO₂ y 95 % O₂) durante 10-15 minutos (pH final 7,4). Una vez montados los vasos en sus respectivos manómetros, se volvieron a gasear con la mencionada mezcla en los experimentos

de producción CO₂ o con O₂, en los de consumo de oxígeno, por otros 10 minutos, antes de ser colocados en el aparato de Warburg a 37°. Las lecturas manométricas se iniciaron después de un período de equilibración en el baño de 10 minutos, con agitación, haciéndose con intervalos de 10 minutos y durante una hora.

El CO₂ producido era determinado de acuerdo con BALL *et al.* (1) con la técnica manométrica de Warburg (10). La misma técnica se empleó en las mediciones de los consumos de oxígeno. La glucosa fue valorada por el método de SOMOGYI y NELSON (9). El análisis estadístico de los datos se hizo aplicando el t-test de Student.

Resultados

La tabla I muestra los efectos de tres metabolitos del triptófano sobre la producción de CO₂ y el consumo de glucosa de tejido adiposo epididimal de rata incu-

Tabla I. Efectos de los metabolitos del triptófano sobre la producción de CO₂ y consumo de glucosa en tejido adiposo epididimal de rata incubado in vitro con insulina.

Los valores son la media $\pm$ el error standard. Entre paréntesis, el número de determinaciones por grupo.

COM- PUESTO	CO ₂ PRODUCIDO (μ l/h/100 mg tejido)				GLUCOSA CONSUMIDA (μ M/h/100 mg tejido)			
	Control	1 mM	2 mM	4 mM	Control	1 mM	2 mM	4 mM
Acido indol-3- acético	58,9 $\pm$ 5,3 (11)	49,1 $\pm$ 6,7 ^a			2,33 $\pm$ 0,3 (11)	2,1 $\pm$ 0,3 ^d		
	63,2 $\pm$ 6,0 (8)		44,7 $\pm$ 4,6 ^a		2,3 $\pm$ 0,3 (8)		1,7 $\pm$ 0,2 ^a	
Acido indol-3 propión- ico	55,0 $\pm$ 4,7 (12)		50,1 $\pm$ 3,7 ^b		1,9 $\pm$ 0,2 (7)		1,7 $\pm$ 0,1 ^c	
Acido indol-3- pirúvico	42,6 $\pm$ 6,4 (8)		41,1 $\pm$ 6,3 ^d		1,3 $\pm$ 0,2 (8)		1,2 $\pm$ 0,1 ^d	
	49,6 $\pm$ 4,2 (8)			25,9 $\pm$ 2,8 ^a	1,1 $\pm$ 0,2 (7)			0,5 $\pm$ 0,2 ^d

a) $p < 0,005$.

b) $p = 0,05$.

c) $p < 0,02$.

d) no significativo.

bado con insulina. Las variaciones entre los controles se deben a diferencias en actividad biológica entre los tejidos de los distintos animales.

A una concentración de 2 mM, sólo el indolpirúvico no parece causar ninguna modificación. El indolacético y el indolpropiónico inhiben la producción de CO_2 y, paralelamente, el consumo de glucosa, produciendo diferencias estadísticamente significativas. A una concentración más baja (1 mM), el indolacético ya da lugar a una considerable inhibición del CO_2 (—20 %), con un efecto menos intenso sobre la captación de glucosa.

De los tres compuestos, el de cadena lateral más corta resulta ser el más activo; el menos, el indolpirúvico.

Por otro lado, ninguno de estos metabolitos manifestó influencia alguna sobre la respiración del tejido. La media $\pm$ el error standard de unos experimentos realizados con cinco animales fueron de $20,2 \pm 1,6 \mu\text{l}$ de $\text{O}_2/\text{h}/100 \text{ mg}$ para los controles y de $19,0 \pm 2,2$ en presencia de los compuestos indólicos.

Discusión

Los resultados de nuestros experimentos hacen muy improbable la hipótesis de que los metabolitos del triptófano bloquean la hiperglucemia epinefrínica aumentando el consumo de glucosa por los tejidos periféricos (3, 5).

En músculo aislado, otros autores (7) han encontrado que el consumo de glucosa del tejido incubado con uno de estos ácidos indólicos era mayor que el de los controles. Pero cuando utilizaron controles con insulina añadida ($10^5 \mu\text{U}/\text{ml}$), aquellas diferencias se invierten. Entonces aparece como muy probable que algo parecido a lo que pasa en tejido adiposo suceda también en el tejido muscular.

De los metabolitos estudiados por SILVERSTEIN *et al.* (7), el más activo fue el de cadena lateral más larga. Este y otros hechos semejantes (8), sugieren que alguna

clase de relación existe entre el número de carbonos de la cadena lateral y la potencia de los compuestos. Sin embargo, en nuestros datos, se observa la tendencia contraria.

Comparando los efectos inhibidores del indolacético e indolpropiónico con los del triptófano (11), se confirman los resultados de SANDERS (3) en el sentido de que las respuestas son más intensas con los metabolitos que con el propio aminoácido.

A la vista de los presentes resultados, se puede decir que en el tejido adiposo incubado con indolacético o indolpropiónico, la insulina muestra una menor actividad biológica. MATURO (2) ha logrado aislar y caracterizar algunos complejos de insulina con el triptófano y con algunos de sus metabolitos.

Resumen

Se han estudiado los efectos de tres metabolitos del triptófano sobre la producción de CO_2 y el consumo de glucosa de tejido adiposo de rata *in vitro*, incubado con insulina en un medio de Krebs-Ringer bicarbonato (pH 7,4) con glucosa. A una concentración $2 \times 10^{-3} \text{ M}$, el indolacético y el indolpropiónico causan una inhibición, estadísticamente significativa. De los tres compuestos, el más activo resulta ser el indolacético, y el menos, el indolpirúvico. Ninguno de estos ácidos indólicos afectó el consumo de oxígeno del tejido. Estos resultados van en contra de la posibilidad de que el efecto inhibidor de estos metabolitos sobre la hiperglucemia epinefrínica sea debido a un aumento de la captación de glucosa por los tejidos periféricos.

Bibliografía

1. BALL, E. G., MARTÍN, D. B. y COOPER, O.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 774, 1959.
2. MATURO, J. M.: *Endocrinology*, **90**, 947, 1972.
3. SANDERS, R. B. y ABULABAN, F. S.: *Pharmacology*, **6**, 155, 1971.
4. SANDERS, R. B., ABULABAN, F. S. y BALFOUR, W. M.: *Fed. Proc.*, **31**, 243, 1972.
5. SANDERS, R. B. y PAREKH, N. B.: *Pharmacology*, **3**, 305, 1970.

6. SCHILLINGER, E. y LOGE, O.: *Biochem. Pharmacol.*, **22**, 841, 1973.
7. SILVERSTEIN, M. N., WAKIM, K. G. y BAHN, R. C.: *Metabolism*, **16**, 410, 1967.
8. SILVERSTEIN, M. N., WAKIM, K. G., BAHN, R. C. y DECKER, R. H.: *Cancer*, **19**, 127, 1966.
9. SOMOGYI, M.: *J. Biol. Chem.*, **195**, 19, 1952.
10. UMBREIT, W. W., BURRIS, R. H. y STAUFFER, J. H.: *Manometric Techniques* (tercera edición). Burgess Publ. Co. Minneapolis, 1957.
11. VÁZQUEZ DE PRADA, J. R.: XIV Reun. Nal. Soc. esp. C. Fisiol., Sevilla, 1973.