

Efecto del ácido octanoico en la secreción de insulina en respuesta a la glucosa *in vitro*

M. M. Valdivia, J. E. Campillo, M. Castillo, E. Rodríguez y J. Osorio

Departamento de Fisiología y Bioquímica
Facultad de Medicina
Granada (España)

(Recibido el 9 de noviembre de 1978)

M. M. VALDIVIA, J. E. CAMPILLO, M. CASTILLO, E. RODRIGUEZ and J. OSORIO. *Effect of Octanoic Acid on the Insulin Secretion in Response to Glucose in vitro*. Rev. esp. Fisiol., 35, 337-340, 1979.

The effect of octanoic acid (1.5 mM) on insulin secretion in 4.4 and 16.7 mM glucose stimulation has been studied in rat's isolated and perfused pancreas. The absence of octanoic acid does not produce any significant insulin secretion increase in response to 4.4 mM glucose infusion, whereas its presence produces a significant insulenic response of a monophasic nature. Both in the presence and absence of octanoic acid, the 16.7 mM glucose-stimulation produces a biphasic insulin secretion. The octanoic acid enhances both the first and the second phase of insulin secretion.

The present results show that octanoic acid clearly potentiates the insulin secretion in response to 4.4 mM and 16.7 mM glucose.

Los estudios del efecto del ácido octanoico sobre la secreción de insulina han dado lugar a resultados contradictorios, tanto en experimentos *in vivo* como *in vitro* (2, 4, 6-11). En el presente trabajo, se pretende estudiar el efecto del ácido octanoico en la secreción de insulina en respuesta a la estimulación por glucosa 4,4 y 16,7 mM, utilizando como sistema experimental el páncreas de rata aislado y perfundido.

Material y métodos

Se utilizan ratas macho Wistar (250-300 g) con ayuno de una noche. La disección del páncreas se realiza bajo anestesia

con pentobarbital sódico, según técnica descrita previamente (3). El páncreas se perfunde a través de una cánula inserta en la aorta torácica a un flujo de 2 ml por minuto con una presión de perfusión de 20-40 mm Hg. El efluente se recoge mediante una cánula colocada en la vena porta. El líquido de perfusión consiste en Krebs-Henseleit ligeramente modificado (12). La concentración de calcio es de 2,5 mM. El líquido de perfusión se complementa con albúmina bovina 2% (Armour), Dextrano T-70 2% (Ibys) y 2,7 mM glucosa. El medio a 37° C se gasea continuamente con carbón (95% O₂ y 5% CO₂). El pH resultante es de 7,5. El medio enriquecido en ácido oc-

tanoico, se prepara añadiendo 75 μ l de ácido octanoico (Merck) a un Krebs-Henseleit sin Cl_2Ca que se añade después, seguido de agitación a 37° C durante 30 minutos.

Tras un período de pre-estimulación de 30 minutos, se infunde la glucosa disuelta en el líquido de perfusión mediante un perfusor (Braun) a un ritmo de 0,11 ml por minuto. Este período de estimulación de 30 minutos, se sigue de un período de post-estimulación durante el cual se perfunde el páncreas con el medio basal. En cada experimento se recogen 20 muestras, cuatro de ellas durante los cinco últimos minutos del período de pre-estimulación. Tras el comienzo de la infusión de glucosa, las muestras se recogen cada minuto durante los 10 primeros minutos y luego cada cinco minutos hasta el final del experimento. Las muestras, de 2 ml, se reco-

gen en tubos de plástico que inmediatamente se colocan en baño de hielo y luego se congelan a -20° C hasta la medida de insulina.

La insulina (insulina inmunorreactiva, IRI) se determina por radioinmunoanálisis mediante una modificación del método del doble anticuerpo (5) utilizando insulina de rata (Novo) como patrón. Las curvas patrones de insulina se realizan en líquido de perfusión con el fin de obtener las mismas condiciones que en los tubos problemas. No se observan diferencias significativas entre las curvas patrón de insulina realizadas en líquido de perfusión con o sin ácido octanoico. La cantidad de insulina liberada por el páncreas se calcula multiplicando la concentración medida en las muestras por el flujo y se expresan en $\mu\text{U}/\text{min}$. Las cantidades totales de insulina secretada durante el período de estimulación se calculan por planimetría de los perfiles de cada perfusión. Todos los resultados se expresan como media \pm ESM. El análisis estadístico se realiza mediante el test de la *t* de Student.

Resultados

En la figura 1 se muestra el efecto del ácido octanoico, 1,5 mM, presente en el líquido de perfusión, sobre la respuesta insulínica a la infusión continua con glucosa 4,4 mM. La cantidad total de insulina liberada durante los 5 primeros minutos de estimulación es de $37,0 \pm 13,2$ y de $137,7 \pm 12,8 \mu\text{U}/5$ min en ausencia y en presencia de ácido octanoico respectivamente ($p < 0,01$). La cantidad total de insulina liberada, durante los 25 minutos restantes del período de estimulación, no se afecta significativamente por la presencia del ácido octanoico en el medio. Los valores recogidos son $134,0 \pm 53,3$ y de $142,5 \pm 44,7 \mu\text{U}/25$ min en ausencia y en presencia de ácido octanoico respectivamente.

En la figura 2 se muestra el efecto del ácido octanoico (1,5 mM) en la respuesta

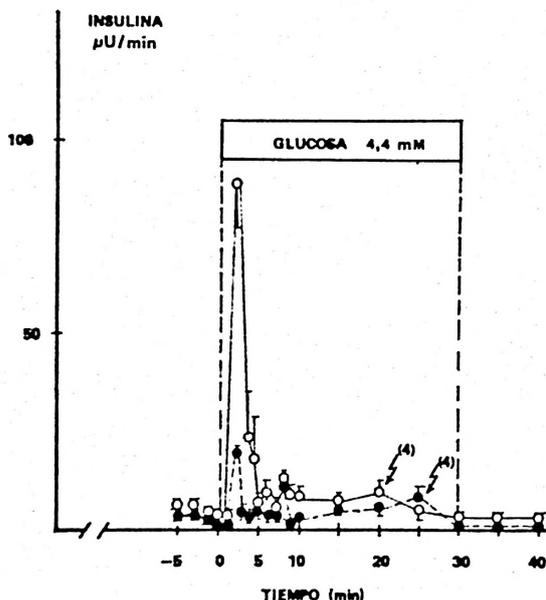


Fig. 1. Respuesta de insulina (IRI) a la glucosa 4,4 mM en ausencia (●---●) y en presencia (○—○) de ácido octanoico 1,5 mM en el medio de perfusión.

El número de experimentos se indica entre paréntesis. Los resultados se expresan como media \pm ESM.

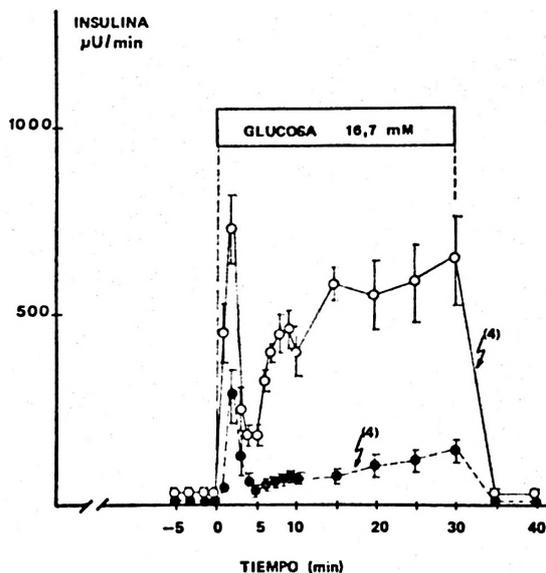


Fig. 2. Respuesta de insulina (IRI) a la glucosa 16,7 mM en ausencia (●---●) y en presencia (○—○) de ácido octanoico 1,5 mM en el medio de perfusión.

El número de experimentos se indica entre paréntesis. Los resultados se expresan como media \pm ESM.

secretora de insulina a la infusión continua de glucosa 16,7 mM. Tanto en presencia como en ausencia del ácido graso, la respuesta insulínica a la glucosa es bifásica. En presencia del ácido octanoico se potencian significativamente las dos fases de la respuesta insulínica. La cantidad total de insulina liberada durante la primera fase es de $599,0 \pm 94,3$ y de $1.795,5 \pm 116,7 \mu\text{U}/5$ min en ausencia y en presencia de ácido octanoico ($p < 0,01$). La cantidad total de insulina liberada durante la segunda fase es de $2.227,5 \pm 419,2$ y de $13.484,0 \pm 1.490,8 \mu\text{U}/25$ min en ausencia y en presencia de ácido octanoico respectivamente ($p < 0,01$).

Discusión

MALAISSÉ y MALAISSÉ-LAGAE (8) han señalado que la capacidad del antisero

antiinsulina para unirse a la insulina se reduce proporcionalmente a la concentración de octanoato sódico presente en el medio. Con el fin de detectar esta posibilidad se han realizado curvas patrones de insulina en líquido de perfusión, con o sin ácido octanoico, a la misma concentración que la utilizada en los experimentos. No se observaron modificaciones significativas en las curvas de insulina por la presencia del ácido octanoico, resultados que coinciden con los reseñados por PI-SUNYER (10).

El ácido octanoico, 1,5 mM, produce una clara potenciación de la secreción de insulina en respuesta a la glucosa 4,4 y 16,7 mM en el páncreas aislado y perfundido de rata. Estos resultados están de acuerdo con los trabajos de SANBAR *et al.* (11) y de MONTAGUE y TAYLOR (9), en los que se señala que el ácido octanoico estimula la secreción de insulina en fragmentos de páncreas y en islotes de rata respectivamente. Por otra parte, contrastan con los mostrados por MALAISSÉ y MALAISSÉ-LAGAE (8) y PI-SUNYER (10) que, utilizando la incubación de fragmentos de páncreas, no encuentran que el ácido octanoico afecte la secreción de insulina en presencia de glucosa tanto a bajas como a elevadas concentraciones.

Las características de la preparación utilizada en este trabajo permiten obtener algunas precisiones dinámicas respecto al efecto del ácido octanoico sobre la respuesta de insulina a la estimulación por la glucosa. El ácido octanoico potencia tanto la primera como la segunda fase de secreción de insulina en respuesta a la estimulación por glucosa 16,7 mM.

Con glucosa 4,4 mM, la presencia de ácido octanoico da lugar a un pico de secreción de breve duración, tras el cual la secreción de insulina regresa a los niveles basales. En presencia de ácido octanoico se produce un adelantamiento de la respuesta de insulina a la estimulación por glucosa 16,7 mM. Se acepta en general que, la respuesta de insulina a la estimu-

lación por glucosa ocurre entre 60 y 90 segundos después de que la glucosa haya alcanzado el páncreas (13). Se ha sugerido que este retraso puede ser modificado por cambios en el estatus metabólico de los islotes pancreáticos y que el ácido octanoico podría actuar en este sentido. Así, se ha demostrado que este ácido graso, junto con el ácido oleico y el palmítico, se metaboliza por las células beta pancreáticas en un grado tal que podrían representar importantes combustibles metabólicos para las células beta (1).

Resulta difícil precisar la importancia fisiológica del efecto del ácido octanoico sobre la secreción de insulina. Algunos autores (11) lo muestran entre los agentes con una mayor potencia insulinosecretora después de la glucosa. Sin embargo, no se encuentra en gran cantidad en el plasma de mamíferos no rumiantes, ni entra a formar parte en cantidades significativas en la dieta de estos animales. No obstante, dado su fácil manejo con fines experimentales a causa de su mayor solubilidad en agua, puede ser de gran utilidad en el estudio del efecto de los ácidos grasos en la secreción de insulina.

Agradecimientos

Los autores agradecen la excelente ayuda técnica de D.^a M. J. AYALA.

Resumen

Se estudia el efecto del ácido octanoico 1,5 mM en la secreción de insulina en respuesta a la estimulación con glucosa 4,4 y 16,7 mM, utilizando el páncreas aislado y perfundido de rata. La ausencia de ácido octanoico no produce aumento significativo de la secreción de insulina en respuesta a la infusión de glucosa

4,4 mM. Su presencia produce una respuesta insulínica significativa de carácter monofásico. Tanto en presencia como en ausencia de ácido octanoico la secreción de insulina en respuesta a la estimulación por glucosa 16,7 mM es bifásica. El ácido octanoico produce un incremento tanto de la primera como de la segunda fase de secreción de insulina.

Los resultados de este estudio muestran que el ácido octanoico potencia la secreción de insulina en respuesta a la glucosa 4,4 y 16,7 mM.

Bibliografía

1. BERNE, C.: *Biochem. J.*, **152**, 661-666, 1975.
2. CAMPILLO, J. E., LUYCKX, A. S., TORRES, M. D. y LEFEBVRE, P. J.: *Diabetologia*, **13**, 386, 1977.
3. CAMPILLO, J. E., LUYCKX, A. S., TORRES, M. D., y LEFEBVRE, P. J.: *Rev. esp. Fisiol.*, **34**, 191-198, 1978.
4. GOBERNA, R., TAMARIT, J. Jr., OSORIO, J., FUSSGANGER, R., TAMARIT, J., y PFEIFFER, E. F.: *Horm. Metab. Res.*, **6**, 256-260, 1974.
5. HALES, C. N. y RANDLE, P. J.: *Biochem. J.*, **88**, 137-146, 1963.
6. JORDAN, N. N. y PHILLIPS, R. W.: *Am. J. Physiol.*, **234**, 162-167, 1978.
7. LINSCHER, W. G., SLONE, D. y CHALMERS, T. C.: *Lancet*, **1**, 593-597, 1967.
8. MALAISSE, W. J. y MALAISSE-LAGAE, E.: *J. Lab. Clin. Med.*, **72**, 438-448, 1968.
9. MONTAGUE, W. y TAYLOR, K. N.: *Biochem. J.*, **115**, 257-262, 1969.
10. PI-SUNYER, F. X.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **149**, 693-697, 1975.
11. SANBAR, S. S. y MARTIN, J. M.: *Metabolism*, **16**, 482-484, 1967.
12. UMBREIT, W. W., BURRIS, R. H. y STAUFFER, J. F.: In «Manometric Techniques» (4.^a ed.), Burgess Publishing Co. Minneapolis, 1964, pp. 132-133.
13. VAGUE, P., RAMAHANDRIDONA, G., DI CAMPO, CH. y MAHMOUD, F.: *Horm. Metab. Res.*, **9**, 453-456, 1977.