

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGIA Y METABOLISMO

Efecto de la adenosina sobre la actividad antilipolítica de la insulina

Por:

Dr. ROBERTO GONZÁLEZ*, Dra. XIOMARA QUESADA** y Téc. TERESA MILANÉS**

González, R. y otros. *Efecto de la adenosina sobre la actividad antilipolítica de la insulina*. Rev Cub Med 21: 3, 1982.

Se comprobó que la actividad lipolítica estimulada por la noradrenalina en el tejido adiposo humano, se incrementa con la presencia de la adenosina-desaminasa, tal como está informado en el tejido adiposo de la rata. Este efecto es máximo cuando la dosis de la noradrenalina en el medio de incubación es del orden de 0.01 micromol. Al eliminar toda la adenosina-desaminasa, no se suprime el efecto antilipolítico de 125 microunidades por mililitro de insulina. No obstante, al estudiar el efecto de la insulina y la adenosina sobre la actividad lipolítica estimulada por las hormonas en el tejido adiposo de la rata, se comprobó que ambos agentes al actuar unidos, producen una potente acción antilipolítica. Hada uno por separado no origina un efecto detectable (Insulina 12,5 microunidades por mililitro, adenosina, 10 micromoles). La adenosina es un modulador fisiológico del metabolismo del tejido adiposo humano y tiene un efecto potencializador de la actividad insulínica sobre la liposis a bajas dosis, aunque no es necesaria su presencia para la actividad de esta hormona a altas dosis.

Médico especialista en bioquímica clínica.

** Doctora en farmacia.

Técnica en laboratorio clínico. Laboratorio de diabetes, Instituto Nacional de Endocrinología y Metabolismo.

INTRODUCCION

Existen numerosas evidencias experimentales de que la adenosina actúa como un efector del sistema adenilciclase celular con efectos estimulatorios o inhibitorios, según el tejido de que se trate.¹ En el tejido adiposo de la rata, se inhibe la actividad lipolítica estimulada por la noradrenalina y otras hormonas, lo cual está relacionado con una disminución de la concentración de AMP cíclico intracelular, posestimulación.² En este sistema, la adenosina tiene una acción similar a la insulina, la cual ejerce una potente acción antilipolítica por la estimulación de la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos y por la inhibición de la actividad de la lipasa intracelular, por un mecanismo que no está aclarado.

Este hecho puede ser utilizado para ampliar el conocimiento sobre el mecanismo de acción de la insulina y además, permite considerar las posibilidades farmacológicas de la adenosina asociada con la insulina en relación con la diabetes mellitus.

Para este fin, es necesario demostrar, primero, que los efectos observados en animales de experimentación son reproducibles en el tejido adiposo humano y posteriormente, esclarecer las posibles relaciones entre la insulina y la adenosina en el metabolismo celular.

Este trabajo constituye un estudio preliminar del efecto de la adenosina sobre la actividad lipolítica estimulada por la noradrenalina en tejido humano y de rata, y en relación con la actividad lipolítica de la insulina.

MATERIAL Y METODOS

Se usaron ratas machos Wistar de 120-159 g de peso, las que se sacrificaron por decapitación. Se extrajo el paquete de grasa epididimaria de ambos lados de donde se cortaron fragmentos de 2-3 mm de diámetro. Se preincubaron 50 a 100 mg de tejido en medio Krebs Ringer-Bicarbonato, conteniendo el 4% de albúmina bovina libre de ácidos grasos, en una atmósfera de carbógeno durante 40 minutos a 37°C. Terminada la preincubación, el tejido fue transferido a 1 ml de medio fresco que contenía las hormonas y otros factores que se señalan en "resultados" y fueron incubados, en las mismas condiciones durante dos horas. En los experimentos donde se usó el tejido adiposo humano, éste se obtuvo de la grasa subcutánea de pacientes sometidos a operaciones quirúrgicas, y en los cuales se comprobó que no existían enfermedades endocrinometabólicas que pudieran influir en los experimentos. El tejido humano se procesó de la forma antes descrita. Una vez terminada la incubación, el tejido se separó del medio de incubación por filtración a través de una malla de nylon. La actividad lipolítica se evaluó por la concentración de glicerol liberado en el medio de incubación, el cual se determinó por el método enzimático descrito por *Richterich*.³ Los resultados se expresan en micromoles de glicerol liberado por gramo de tejido durante el tiempo de incubación. En una parte de los experimentos se exploró indirectamente el efecto de la adenosina, al estudiar la respuesta lipolítica en condiciones de ausencia total de este nucleósido, lo cual se logra al añadir al medio de incubación la

adenosina-desaminasa (0,5 microgramos por ml). En los experimentos previos, se comprobó que en esas condiciones toda la adenosina de origen intracelular presente en el medio se degrada a inosina, lo que no tiene efecto sobre la función estudiada.

RESULTADOS

El efecto de la insulina sobre la lipólisis estimulada por las hormonas, depende tanto de la concentración de insulina como de las dosis de la hormona estimulante, por lo que se requiere como primer paso caracterizar la respuesta del sistema usado. El gráfico 1 muestra el efecto de distintas concentraciones de la noradrenalina sobre la liberación de glicerol por el tejido adiposo de rata, y el efecto de 125 microunidades por mililitro de insulina. En este sistema, la estimulación máxima se obtiene a concentraciones de la noradrenalina en el rango de 1 a 10 micromoles. El efecto de la insulina se observa solamente a concentraciones hasta de 1 micromol. A esta concentración de la noradrenalina, la inhibición producida por la insulina se manifiesta en un rango de 5 a 250 microunidades por mililitro. A concentraciones saturadas de insulina, la inhibición no es mayor del 55% (gráfico 2).

Para explorar el efecto de la adenosina, utilizamos las dosis de la noradrenalina que se encuentran en el rango de estimulación media y que a su vez, se corresponden con las concentraciones fisiológicas en sangre de humanos (0,01-1 micromol). Las concentraciones de insulina son los niveles basal y máximo postestimulación en una prueba de tolerancia a la glucosa (12, 5 y 125 microunidades por mililitro).

Gráfico 1

ACTIVIDAD LIPOLITICA ESTIMULADA POR LA NORADRENALINA EN EL TEJIDO ADIPOSO DE LA RATA. LA CURVA SUPERIOR MUESTRA EL EFECTO DE LA NORADRENALINA A DISTINTAS DOSIS Y LA CURVA INFERIOR INDICA EL EFECTO DE 125 MICRO- UNIDADES POR MILIMETRO DE INSULINA

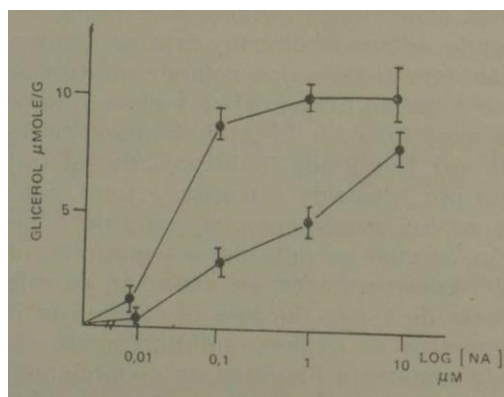
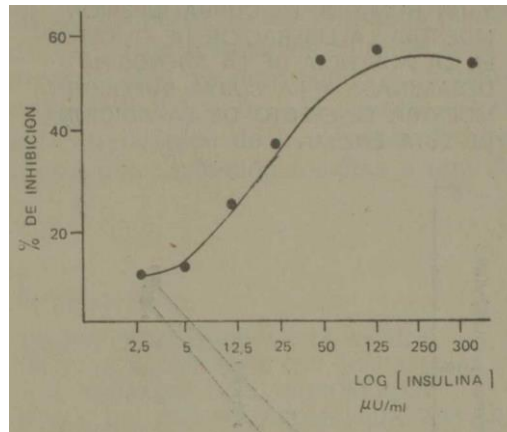


Gráfico 2

EFFECTO DE LA DOSIS DE INSULINA SOBRE LA INHIBICION DE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA ESTIMULADA POR LA NORADRENALINA EN EL TEJIDO ADIPOSO DE LA RATA



En experimentos realizados en forma paralela, usando tejido de rata y humano, comprobamos que la supresión de la adenosina del medio de incubación produce en ambos casos, un incremento de la actividad lipolítica que depende de la concentración de la hormona estimulante. Siendo máxima a concentraciones bajas (0,01 U micromol), como se observa en el gráfico 3 (A-B). Aunque el tejido de rata produce 10 veces más glicerol por unidades de peso que el tejido humano, la morfología, la curva dosis- efecto y las características de la estimulación por la adenosina-desaminasa, son prácticamente iguales.

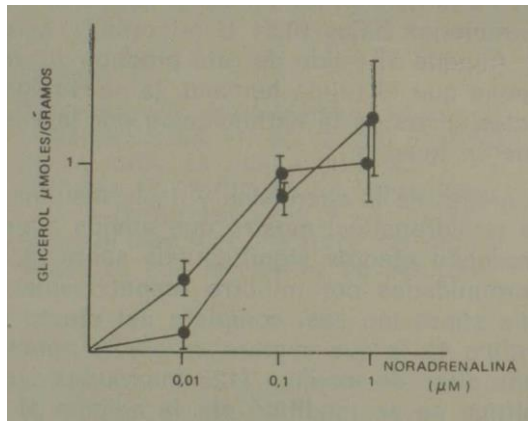
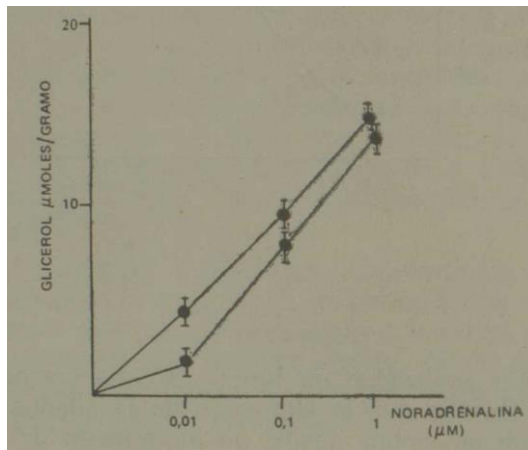
El estudio del efecto de la adenosina y de la insulina sobre la lipólisis estimulada por la noradrenalina, mostró que ambos agentes, a concentraciones que no producen efectos significativos sobre la lipólisis (10 micro- moles y 12,3 microunidades por mililitro respectivamente) producen, actuando unidas, una supresión casi completa del efecto estimulante de la noradrenalina (gráfico 4), lo que sugiere un efecto notencializado. Sin embargo, a dosis más altas de insulina (125 microunidades por mililitro), la actividad antilipolítica no se modificó por la adición al medio de incubación de adenosina-desaminasa, tanto en el tejido adiposo de rata como en el humano. Esto se aprecia en el gráfico 5 (A-B).

DISCUSION

En el sistema experimental utilizado, pudimos reproducir completamente los efectos antes informados de la adenosina y la adenosina-desaminasa sobre la actividad lipolítica estimulada por las hormonas en el tejido de la rata y además, demostrar un efecto similar en el tejido humano. Es significativa la baja respuesta encontrada en este último, lo que también ha

Gráfico 3 (A-B)

EFFECTO DE LA ADENOSINA DESAMINASA (0,5 MICROGRAMOS POR MILIMETRO) SOBRE LA ACTIVIDAD LIPOLITICA ESTIMULADA POR LA NORADRENALINA EN EL TEJIDO ADIPOSEO (A) DE RATA Y (B) HUMANO. LA CURVA INFERIOR MUESTRA LA LIBERACION DE GLICEROL EN LA AUSENCIA DE LA ADENOSINA DESAMINASA Y LA CURVA SUPERIOR MUESTRA EL EFECTO DE LA ADICION DE ESTA ENZIMA



sido informado anteriormente⁴ y es explicable por la diferencia existente entre las diversas especies, con respecto a numerosos procesos metabólicos; aunque no puede ser descartado completamente el posible efecto de los distintos agentes farmacológicos que comúnmente son utilizados durante el acto quirúrgico.¹ En nuestros experimentos, se incluyó un paso de preincubación con el objeto de disminuir este efecto al mínimo, ya que es de esperar que la mayor parte de los fármacos presentes en los adipocitos, se eliminan al medio de incubación durante este proceso. El hecho de que los efectos observados, se reproducen a concentraciones de la noradrenalina, y en el rango de 0,01 a 0,1 μ M permite considerar a la adenosina como un modulador fisiológico de la lipólisis. En experimentos similares, *Fredholm*⁵ encontró una inhibición máxima a una dosis de 0,03 μ M.

Gráfico 4

EFFECTO COMBINADO DE LA INSULINA (12,5 MICROUNIDADES POR MILIMETRO) Y LA ADENOSINA (10 MICROMOLES) SOBRE LA LIPOLISIS ESTIMULADA POR LA NORADRENALINA EN EL TEJIDO ADIPOSITO DE LA RATA. LOS RESULTADOS MUESTRAN LA MEDIA Y EL ERROR ESTANDAR DE TRES EXPERIMENTOS E INDICAN LOS MICROMOLES DE GLICEROL LIBERADO POR GRAMO DE TEJIDO DURANTE EL TIEMPO DE INCUBACION. LOS ASTERISCOS MUESTRAN LOS RESULTADOS DEL TEST "T" PARA LAS MEDIAS (*0, $p < 0,05$, ** $p < 0,01$)

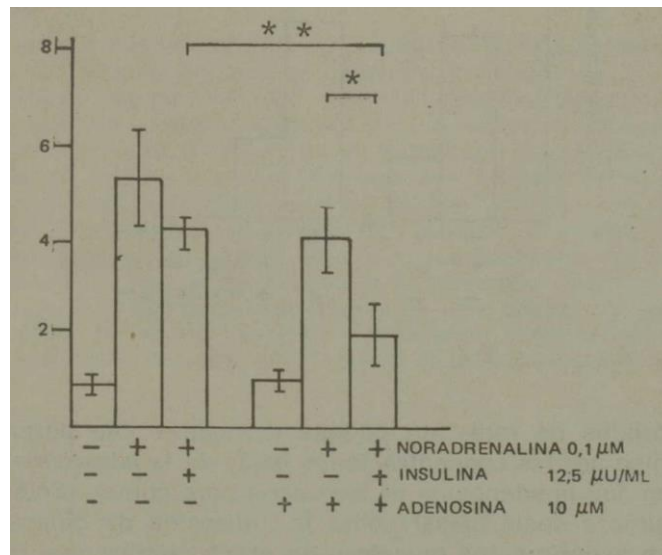
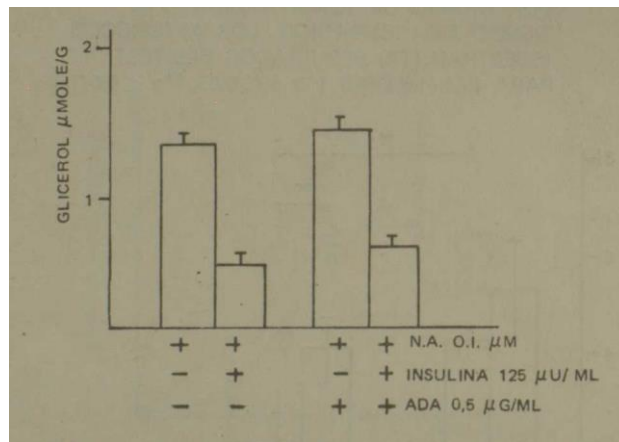
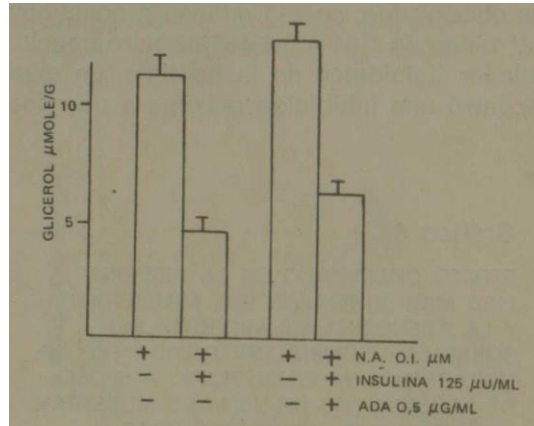


Gráfico 5 (A-B)

EFFECTO DE LA ADENOSINA DESAMINASA (0,5 MICROGRAMOS POR MILIMETRO) SOBRE LA INHIBICION DE LA LIPOLISIS ESTIMULADA POR LA NORADRENALINA POR LA INSULINA (125 MICROUNDIDADES POR MILIMETRO EN EL TEJIDO ADIPOSEO DE LA RATA (A) Y HUMANO (B)



Al usar tejidos de rata, fue posible demostrar una potenciación del efecto insulínico por las concentraciones bajas de la adenosina. *Schwabe y Ebert* plantean que la adenosina es necesaria para que se produzca el efecto de la insulina a dosis bajas^{fi} sobre la utilización de glucosa en adipocitos. Nuestros experimentos muestran un efecto similar con respecto a la actividad antilipolítica. No obstante, a concentraciones mayores (125 ;j.M/ml) la adenosina no es necesaria para que se produzca el efecto insulínico máximo.

Recientemente, se ha demostrado que el adipocito posee receptores específicos para la adenosina.⁷ Esto apoya el criterio de que la adenosina tiene una función reguladora en el metabolismo celular y plantea la posibilidad de una interrelación entre los receptores de la insulina o las hormonas de acción lipolítica con los receptores de la adenosina, por lo que son necesarias más investigaciones con el fin de caracterizar este sistema. Estos resultados iniciales indican que la acción hormonal no es sólo el resultado de las concentraciones de la hormona y del estado funcional de los receptores de la membrana celular, sino que existen procesos intracelulares capaces de modular dichos procesos.

SUMMARY

González, R. et al. *Effect of adenosine on insulin antilipolytic activity*. Rev Cub Med 21: 3, 1982.

It was verified that lipolytic activity stimulated by noradrenalin in human adipose tissue. is increased by adenosine-deaminase, such as it is reported in the adipose tissue of the rat. This effect is at maximum when noradrenalin dose within incubation medium is roughly 0,01 micromol. When adenosine-deaminase is eliminated, antilipolytic effect of insulin 125 microunits per milliliters is not suppressed. Although, when studying insulin and adenosine on lipolytic activity stimulated by hormones in the rat adipose tissue, it was proved that both agents acting together, produce a powerful antilipolytic action. Each agent separately does not caused a noticeable effect (insulin, 12,5 microunits per milliliters; adenosine, 10 micromols). Adenosine is a physiological metabolic modulator of human adipose tissue, having at low dosis potentialize effect of insulinic activity on lipolysis, although its presence is not necessary for this hormone activity at high dose.

RÉSUMÉ

González, R. et al. *Effct de l'adénosine sur l'activité antilipolytique de l'insuline*. Rev Cub med 21: 3, 1982.

Il a été constaté que l'activité lipolytique stimulée par la noradrénaline dans le tissu adipeux humain, augmente en présence de l'adénosine-désaminase, tel qu'il a été rapporté dans le tissu adipeux des rats. Cet effet atteint son maximum lorsque la dose de nor-adrénaline dans le milieu d'inoculation est de l'ordre de 0,01 micromol. Quand on supprime toute l'adénosine-désaminase, il n'y a pas de suppression de l'effet antilipolytique de 125 micro-unités par millilitre d'insuline. Toutefois, lors d'étudier l'effet de l'insuline et de l'adénosine sur l'activité lipolytique stimulée par les hormones dans le tissu adipeux du rat, il a été constaté que les deux agents, agissant ensemble, produisent une puissante action antilipolytique. Chacun séparément, ne produisent pas un effet détectable (12,5 micro-unités d'insuline par millilitre et 10 micromoles d'adénosine). L'adénosine est un modulateur physiologique du métabolisme du tissu adipeux humain, et elle a un effet potentialisateur de l'activité insulinique sur la lipose à des faibles doses, quoiqu'il ne soit pas nécessaire sa présence pour l'activité de cette hormone à de fortes doses.

PE3ICME

roHcajiec, P. ii ap. ueíicTBue ajjeH03aHa Ha aHTajmnojmTaHee - KyK
aKTIIBHOCTB IIHCyjDIHa. Rev Cub Me* 2U 3, 1982.

lipa npoBe^eHM accjieioBaHHfl *oujio* no^TBeps^eHO, hto .mnojmtaMec Kan aKTMBHocTB, CTHMyjpmoBaHHaH HopaspeHajimioM b nejioBe^eoicofi ajmno3Hofl TKaHa, noBnnaeTc# b npacyrcTBaa ajjeHosBHa-flesaMaHa- 3H, Taicse Kan b aj;nn03H0ii TKaHa MHma, o HéM yxe cooOmajiocB. - 3to jjeScTBee jiocTuraeT MaKcawyMa, Korna .1103a HopaspeHajuiHa b HHKydaHHOHHOil cpe,n;e jiocTiiraeT nopamca 0,01 MaKpoMOJi. Ilpn ycT- paHeHaa Bcero to ecTB ijiojhoctbjo aneH03iiHa-ji;e3ar<mHa3H, He ycr- P8KH6TCH aHTiumnoJinTiiHeckoe .neficTsae 125 ivaiKpoejiEHHii Ha *nmum* jihtp aHcyjiHHa. O^HaKo, npa accjieioBaHaa neñcTB&a aHcyjmna a - aüeH03HHa Ha jmnnojuiTii^ieckjno aKTQBHOCTB, BH3BaHHy® ropMOHaMB b aanno3Hoñ TKaHe mena, óhjo nouTBepameHO, q-ro ocia arenra, aefi-CTByKmiie OHKOBpeweHHO, BH3UBa©T CHJIBH08 aHTaJiaiiOJIBTB'46CKO0 fleft CTBae. Kaa^HH B3 raax B OTJiejUBHOCTH He np033BOH0T JIOCTaTO'IHOpo- 9(tX)eKTa (HHCyjiHH 12,5 MHKpoejCElHim Ha OJtflH MHJUHJIHTp, a^eH03H- Ha 10 MHKpOMOJl). AjieH03HH HBJIHeTCH \$ñ3H0J0raHeCKBM*MOJiyJUITO - pop@ieTaooJin3Ma ^ejioBeneckoa ajmno3Hoñ raam a aweeT ycajiaBaio- mafí sgpoeKT aHcyjiaHOBoro JieñCTBaH Ha Jiano3 apa HH3KHX no3ax,xo tH ero npacyTCTBae He HBJIHeTCH HeoóxonaMüM *RM* jieñicTBaH 3Toró ropwoHa npa BHcoKax no3ax.

BIBLIOGRAFIA

1. *Fain, J. N.* Biochemical aspects of drug and hormone action on adipose tissue. *Pharmacol Rev* 25: 67, 1973.
2. *Fain, J. N.; C. C. Malbon.* Regulation of adenylate cyclase by adenosine. *Mol Cell Biochem* 25: 143, 1979.
3. *Richterch, R.* Clinical Chemistry. Ed. Academic Press. P. 274, New York, 1969.
4. *Ohisalo, J. J.* Effects of adenosine on lipolysis in humane subcutaneous fat cells. *J Clin Endocrinol Metab* 52: 359, 1981.
5. *Fredholm, B. B.* Effect of adenosine, adenosine analogues and drug inhibiting adenosine inactivation on lipolysis in rat fat cells. *Acta Physiol Scand* 102: 191, 1978.
6. *Schwabe, U.; R. Ebert.* Adenosine release from fat cells effect on cyclic AMP levels and hormone actions. In advances in cyclic nucleotide research. Vol. 5. Ed. Drum- moud G.I., Greengaid P. and Robinson G.A., Reaven Press, New York, 1975.
7. *Melbon, C. C.; R. C. Hert; J. N. Fain.* Characterization of (3 H) adenosine binding to fat cell in membranes. *J Biol Chem* 253: 3114, 1978.

Recibido: 28 de septiembre de 1981.

Aprobado: 15 de octubre de 1981.

Dr. *Roberto González*

Instituto Nacional de Endocrinología y Metabolismo

Hospital "Comandante Manuel Fajardo"

-apata y D, Vedado, Ciudad de La Habana.