

DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA
MOLECULAR.
UNIVERSIDAD DE GRANADA.

“DESARROLLO DE LAS CAPACIDADES GLUCONEOGENICA Y
GLUCOLITICA DE CORTEZA RENAL DURANTE CICLOS DE
AYUNO Y ALIMENTACION”.

García-Salguero, L., Peragón, J. y Lupiáñez J.A.

RESUMEN

Se han estudiado los efectos de diferentes ciclos alternativos de alimentación y ayuno sobre las capacidades gluconeogénica y glucolítica de corteza renal, así como sobre los principales enzimas implicados en ambos procesos. Durante el periodo de alimentación, caracterizado por someter a los animales a una dieta rica en carbohidratos, la capacidad gluconeogénica de corteza renal disminuyó hasta un máximo del 60 %, mientras que el flujo glucolítico se incrementó significativamente a lo largo del tiempo llegando a alcanzar un valor superior al 100 %. La situación cambia durante el periodo de ayuno, dando lugar a un importante y significativo (70 %) incremento de la síntesis de glucosa con una disminución (31 %) de la capacidad glucolítica. Los resultados presentados en este trabajo permiten concluir que la corteza renal es capaz de poner en marcha los mecanismos adecuados de adaptación frente a diferentes situaciones nutricionales, indicando el importante papel que juega este tejido en el mantenimiento del estado glucostático del animal.

SUMMARY

The effects of different starve-feed cycles on gluconeogenic and glycolytic capacities of kidney cortex have been studied. Opposite effects were found during these nutritional states (feeding, characterized by a high carbohydrate diet, and starvation) and both metabolic processes. During the feeding state, a decrease in the gluconeogenic flux was parallel to an increase in the glycolytic one. The behaviour of these metabolic processes was opposed during starvation. The results in this work show that kidney cortex, is able to adapt itself to different availability of exogenous macronutrients or nutritional situations, pointing out the important role that it plays in the maintenance of the glucostatic state of the animal.

INTRODUCCION

El hígado es el principal órgano en donde tiene lugar mayoritariamente la gluconeogénesis, y por tanto el primer encargado de mantener la homeostasis glucémica, sin embargo, durante los últimos años se han mostrado datos que apoyan una significativa contribución de la gluconeogénesis renal en el mantenimiento de los niveles de glucosa sanguínea (1). En este sentido se ha puesto de manifiesto aportaciones importantes y significativas de la gluconeogénesis renal en situaciones fisiológicas, tales como el ayuno (1-3) o tras una dieta rica en carbohidratos (4), o patológicas como diabetes (1), acidosis metabólica (1,5) e incapacidad funcional hepática (6-9).

La síntesis de glucosa es uno de los procesos metabólicos cuyo funcionamiento exige de un control y coordinación extremadamente estrictos, debido, en primer lugar, a que el sistema multienzimático utilizado por las células corresponde en su mayoría al empleado durante la degradación de la propia glucosa, y por otra porque se trata de un proceso discontinuo, debiéndose frenar su actividad en aquellas condiciones en las cuales el aporte de glucosa exógena sea alto, o por el contrario, alcanzar altos niveles de actividad cuando aquello no ocurre o sea necesario transformar en glucosa todos aquellos materiales no glucídicos aportados en la dieta.

Se sabe que una de las principales características del proceso gluconeogénico hepático, es su capacidad de adaptación ante las diferentes condiciones nutricionales del organismo (10-12). Del mismo modo que la corteza renal es capaz de adaptarse a las diversas situaciones antes mencionadas, nos pareció interesante comprobar si esta adaptación ocurre igualmente ante la situación nutricional del animal, ya que este hecho aportaría una prueba adicional acerca del importante papel metabólico que juegan las células de este tejido en la coordinación del metabolismo de carbohidratos y gluco-regulación en el organismo completo. Para ello se han estudiado los procesos gluconeogénico y glucolítico en corteza renal durante ciclos de alimentación (con una dieta alta en carbohidratos) y ayuno.

MATERIAL Y METODOS

Productos

En la preparación de tampones, soluciones salinas y demás reactivos generales se han utilizado productos MERCK (Darmstad, Alemania). Los sustratos, coenzimas y albúmina bovina utilizados pertenecían a la firma SIGMA Chemical Co. (USA). La colagenasa Tipo IV obtenida de *Clostridium histolyticum* procedía también de esta misma firma. Enzimas y el resto de productos utilizados fueron de Boehringer (Mannheim, Alemania).

Animales

Se utilizaron ratas machos de raza Wistar de peso aproximado entre 200 y 250 g. Se mantuvieron en una habitación termostizada a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ y con luz artificial de 8.00 a 20.00 h. Fueron alimentadas con una dieta estándar (Sandermus D.G.P.A. 14685:54.5 % carbohidratos, 18 % proteínas, 4.5 % aceite de oliva) durante al menos 10 días. Tras este período de adaptación y siempre a las 8.00 h, eran separados en diferentes jaulas 3 ó 4 animales para ser alimentados con una dieta alta en carbohidratos (80 % carbohidratos, 6 % proteínas, 8 % aceite de oliva) o bien ser sometidos a ayuno, con libre acceso al agua, durante 96 horas. Después de este tiempo, los animales alimentados eran privados de comida durante otras 96 horas y posteriormente alimentados durante 48 horas. Igualmente, los animales que previamente habían estado privados de alimentación eran alimentados con la dieta alta en carbohidratos 96 h y finalmente privados de la comida durante otras 48 horas.

Determinación de las capacidades gluconeogénica y glucolítica renales.

El método consistió en la incubación a 36°C de cortes de la corteza renal en una solución de Krebs-Henseleit (pH 7.4) durante 1 hora. Los sustratos utilizados fueron piruvato 10 mM y glucosa 2 mM para la capacidad gluconeogénica y glucolítica respectivamente. Posteriormente en el sobrenadante se determinó glucosa (13), lactato (14) y piruvato (15). Los resultados fueron corregidos restando el valor correspondiente a los cortes de tejido incubados sin sustrato. Los resultados están expresados en nmoles/hora de incubación/mg de tejido seco.

RESULTADOS Y DISCUSION

Una de las mejores formas de adquirir un conocimiento más profundo de las relaciones entre las principales rutas metabólicas y de la capacidad de respuesta adaptativa de un determinado tejido, consiste en estudiar los cambios que tienen lugar en el metabolismo durante ciclos alternativos de alimentación y ayuno. Estos ciclos permiten un consumo variable de combustible para poder afrontar una demanda metabólica variable.

El primero de estos ciclos consistió en suministrar a los animales durante 4 días (96 horas) una dieta alta en carbohidratos, según se describe en Material y Métodos. Al cabo de este tiempo, se sometieron a 96 horas de ayuno y posteriormente a 48 horas de nuevo con la misma dieta. Se analizaron los diferentes parámetros a las 0 horas, 96 h con la dieta, 24, 48 y 96 h de ayuno, y 24 y 48 h de dieta. El segundo fue el opuesto: 96 h de ayuno, 96 h con una dieta alta en carbohidratos y 48 h de ayuno. Igualmente se estudiaron los parámetros a las mismas horas.

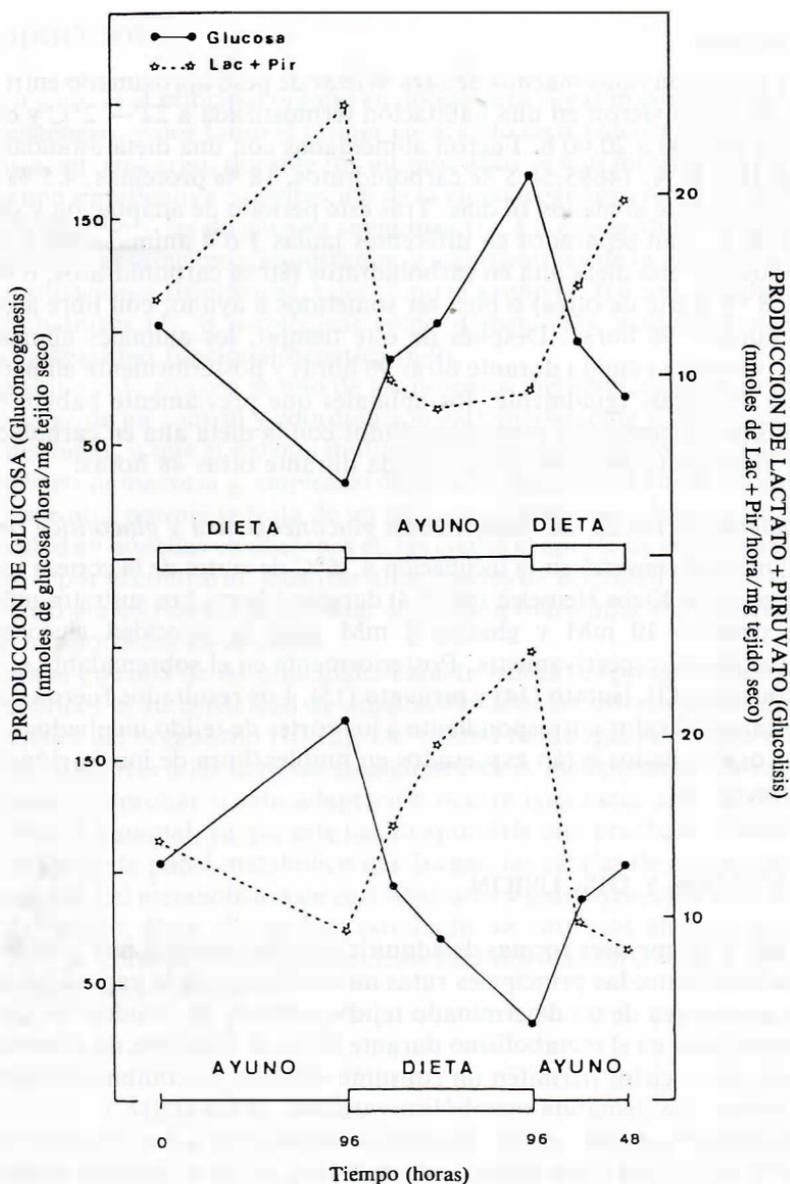


Fig. 1.- Evolución de las capacidades gluconeogénica y glucolítica de corteza renal durante ciclos de alimentación y ayuno. La capacidad gluconeogénica y la capacidad glucolítica se expresan como nmoles de glucosa o piruvato + lactato (respectivamente) por hora de incubación y por mg de tejido seco. Cada punto corresponde al valor medio de al menos 6 experimentos. El error estándar fue inferior al 8 % y no se representa para facilitar la comprensión de la gráfica.

En la figura 1 se han representado conjuntamente las capacidades gluconeogénica y glucolítica de corteza renal de rata en ambos ciclos de alimentación. Se puede observar que, tanto en un ciclo como en otro, la dieta rica en carbohidratos inhibió significativamente la formación de glucosa. Esta inhibición fue del 69 % a las 96 horas de serles suministrada la dieta. Sin embargo los valores de síntesis de glucosa en este tejido alcanzan de nuevo los niveles originales después de 48 horas de ayuno, siendo el incremento superior al 400 % a las 96 horas de ayuno, con respecto al momento en que se les quita la dieta. Si nuevamente son alimentadas, los valores de glucosa descienden por debajo del correspondiente a las 0 horas.

Los porcentajes de activación e inhibición de las capacidades gluconeogénica y glucolítica encontrados en cada punto de los ciclos con respecto al inicio de la situación nutricional correspondiente, se muestran en la tabla 1. Hay que destacar la fuerte subida que presenta la capacidad gluconeogénica a las 96 horas de ayuno tras 96 horas con la dieta alta en carbohidratos, del orden del 525 %, o la inhibición de la capacidad glucolítica después de 48 horas de ayuno, de haber estado sometidos a 96 horas con la misma dieta.

Tabla 1.
Desarrollo de las capacidades glucolítica y gluconeogénica durante ciclos de alimentación y ayuno.

	0 horas	96h Dieta	+96h Ayuno	+48h Dieta
Glucosa	100	31.3	524.7	42.1
Pir + Lac	100	174.3	37.7	211.0

	0 horas	96h Ayuno	+96h Dieta	+48h Ayuno
Glucosa	100	164.1	19.1	318.3
Pir + Lac	100	65.7	265.1	33.3

Cada valor corresponde al porcentaje de activación o inhibición de las capacidades gluconeogénica (glucosa) o glucolítica (piruvato + lactato) con respecto al punto anterior.

Cuando se analiza la capacidad glucolítica (medida como la suma de la producción de piruvato + lactato) se puede apreciar un comportamiento claramente inverso. La formación de piruvato y lactato aumentó significativamente (un 74 %) durante el primer período de 96 horas (alimentación), para descender por debajo de los valores originales durante el ayuno. Se puede observar que es durante el primer período de ayuno (24 horas) donde tiene lugar la máxima capacidad de inhibición (61 %), siendo después mucho menor. La realimentación en este momento restablece y supera los valores correspondientes a las 0 horas.

Como cabía esperar, los resultados obtenidos con el segundo de los ciclos ensayados, presentan un comportamiento claramente opuesto. Durante los períodos de ayuno la gluconeogénesis se ve incrementada, a la vez que disminuye el proceso glucolítico. Por el contrario, durante la alimentación, se inhibe la gluconeogénesis y aumenta la glucolisis.

Estos resultados muestran que en ambos ciclos de alimentación, los flujos glucolítico y gluconeogénico en corteza renal, cambian progresivamente y mediante comportamientos opuestos durante los períodos de alimentación o ayuno característicos de estos ciclos. Hay que resaltar el hecho de que los cambios más importantes ocurren en los momentos en los cuales la situación nutricional cambia, es decir si se analizan los diferentes parámetros a las 24, 48 ó 96 horas al pasar de la alimentación al ayuno y al contrario, los cambios más profundos tienen lugar en las primeras 24 horas; posteriormente las variaciones son de menor intensidad. Esto demuestra de una forma clara la capacidad de adaptación de la corteza renal ante el aporte o no de macronutrientes por la dieta.

La razón insulina/glucagon característica durante estos ciclos, explica estos comportamientos. Durante el período de alimentación, la disminución de glucagon (11,16) proporciona aumento de los niveles de fructosa 2,6-bisfosfato, 6-fosfogluconato (17) y fructosa 1,6-bisfosfato, así como una disminución de AMP cíclico, permitiendo una reducción en la actividad fructosa 1,6-bisfosfatasa y una activación de los enzimas glucolíticos.

Durante el ayuno, cambia la relación insulina/glucagon (16,18). En este caso el glucagon promueve efectos opuestos, un aumento de AMP cíclico y una disminución en los niveles de fructosa 2,6-bisfosfato (19), dando lugar a un aumento de la actividad gluconeogénica y una reducción de la actividad glucolítica.

Con nuestros resultados se pone de manifiesto una indudable capacidad de adaptación de la corteza renal ante diferentes influencias nutricionales, lo que permite conocer mejor las características reguladoras de la gluconeogénesis y glucolisis de corteza renal.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por la CAICYT (proyecto 1139/81). L. García-Salguero ha sido becaria del P.F.P.I. del Ministerio de Educación y Ciencia.

BIBLIOGRAFIA

- (1) KIDA, K., NAKAJO, S., KAMIYA, F., TOYAMA, Y., NISHIO, (1978). *J. clin. Invest.* 62, 721-726.
- (2) OWEN, O.E., FELIG, P., MORGAN, A.P., WAHREN, J. y CAHILL, G.F. Jr. (1969). *J. Clin. Invest.* 48, 574-583.

- (3) GARCIA-SALGUERO, L. y LUPIAÑEZ, J. (1987). *Biochem. J.* (en prensa).
- (4) GARCIA-SALGUERO, L. y LUPIAÑEZ, J. (1987). *Biochem. J.* (en prensa).
- (5) LONGSHAW, I.D., ALLEYNE, G.A.O. y POGSON, C.I. (1972). *J. Clin. Invest.* 51, 2284-2291.
- (6) LUPIAÑEZ, J.A., FAUS, M.J., MUÑOZ-CLARES, R. y SANCHEZ MEDINA, F. (1976). *FEBS Lett.* 61, 277-281.
- (7) FAUS, M.J., LUPIAÑEZ, J.A., VARGAS, A. y SANCHEZ-MEDINA, F. (1978). *Biochem. J.* 174, 461-468.
- (8) SANCHEZ-POZO, A., LUPIAÑEZ, J.A., CORNO, A., PITA, M.L. y SANCHEZ-MEDINA, F. (1983). *Molecular Physiology*, 3: 143-150.
- (9) SANCHEZ-POZO, A., LUPIAÑEZ, J.A., CORNO, A., PITA, M.L. y SANCHEZ-MEDINA, F. (1983). *Horm. Metabol. Res.*, 15: 171-175.
- (10) CLADARAS, C. y COTTAM, G.L. (1980). *J. Biol. Chem.* 255, 11499-11503.
- (11) PERET, J., FOUSTOCK, S., CHANEZ, M., BOIS-JOYEUX, B y ASSAN, R. (1981). *J. Nutr.* 111, 1173-1184.
- (12) AZZOUT, B y PERET, J. (1984). *Biochem. J.* 218, 975-981.
- (13) BERGMAYER, H.U. y BERNT, E. (1974). In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H.U. ed.) vol. 3 pp. 1205-1212. Velay Chemie Academic Press Inc. London & New York.
- (14) GAWEHN, K y BERGMAYER, H.U. (1974). In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H.U. ed.) vol. 3 pp. 1492-1495. Velay Chemie Academic Press Inc. London & New York.
- (15) CZOK, R. y LAMPRECHT, W. (1974). In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H.U. ed.) vol. 3 pp. 1446-1451. Velay Chemie Academic Press Inc. London & New York.
- (16) TIEDGEN, M y STEITZ, H.G. (1980). *J. Nutr.* 110, 876-882.
- (17) SOMMERCORN, J y FREEDLAND, R.A. (1984). *J. Nutr.* 114, 1462-1469.
- (18) MARLISS, E.B., AOKI, T.T., UNGER, R.H., SOELDNER, J.S. y CAHILL, G.F. Jr. (1970). *J. Clin. Invest.* 49, 2256-2270.
- (19) PILKIS, S.J., CHRISMAN, T.D., BURGESS, B., MCGRANE, M., COLOSIA, A., PILKIS, J., CLAUS, T.H. y EL-MAGHRABI, M.R. (1983). *Adv. Enzyme. Regul.* 21, 147-173.