

TRABAJOS DE REVISION

DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR
UNIVERSIDAD DE GRANADA

CICLO DE LAS PENTOSAS FOSFATO. II. REGULACION METABOLICA Y NUTRICIONAL A CORTO Y LARGO PLAZO

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

RESUMEN

La amplia distribución del ciclo de las pentosas fosfato en las células vivas, justifica la importancia de esta ruta, cuyas principales funciones son: a) producción de pentosas fosfato para la síntesis de nucleótidos; b) formación de NADPH para ser usado por la célula en una variedad de caminos biosintéticos y procesos de reducción. El control del ciclo de las pentosas fosfato no está totalmente dilucidado; los mecanismos reguladores probablemente operan en las reacciones iniciales (a nivel de la glucosa 6-fosfato). La actividad de la G6PDH hepática es inhibida por NADPH. Los experimentos confirman que la inhibición por NADPH es revertida competitivamente por NADP y que depende de la relación $[NADPH] / [NADP^+]$. Sin embargo, otros factores deben acompañar la inhibición por NADPH, y en este sentido se ha propuesto al glutatión. Varias observaciones han indicado que la actividad de la G6PDH y 6PGDH están reguladas por el estado nutricional y hormonal del animal. La actividad enzimática aumenta cuando un animal es sometido a ayuno y realimentado después con una dieta alta en carbohidratos, o después de la administración de insulina o glucocorticoides. Por otro lado, la inducción de estas enzimas por la dieta es regulada de forma coordinada con otros enzimas lipogénicos. También se discuten y comentan algunas propiedades del ciclo de las pentosas fosfato en riñón.

SUMMARY

The widespread occurrence of the pentose phosphate pathway in living cells testifies to the importance of this metabolic route, whose primary functions are: a) the production of pentose phosphate for mono-, di- and polynucleotide synthesis; b) the formation of NADPH to be used by the cell in a variety of biosynthetic pathways and reductive processes. The control of the pentose phosphate cycle is not yet fully understood; regulatory mechanisms are likely to operate at the initial step (the glucose 6-phosphate reaction). The activity of hepatic glucose 6-phosphate dehydrogenase is inhibited by NADPH. The experiments confirm that the inhibition by NADPH is competitively reversed by NADP and depends on the $[NADPH] / [NADP^+]$ ratio. However, other factors must overcome the inhibition by NADPH, and in this sense glutathione has been proposed. Several observations have indicated that the activity of the glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase is regulated by the nutritional and hormonal state of the animal. Enzyme activity increases when an animal is starved and re-fed with a high-carbohydrate diet, or after administration of insulin or glucocorticoids. In addition, the dietary induction of these enzymes is regulated in a fashion that is coordinate with other lipogenic enzymes. Also, some features of the renal pentose phosphate pathway are discussed.

1.- INTRODUCCION

Aunque tradicionalmente se ha considerado a esta ruta metabólica como una vía alternativa en la degradación de la glucosa, representa un ejemplo típico de integración metabólica, no solo por el gran número de procesos fisiológicos y bioquímicos que regulan su actividad y que de ella dependen directamente, sino además por la gran variedad de mecanismos que interactúan en la regulación de sus enzimas claves. Bajo este doble punto de vista se ha enfocado este estudio, empezando con el análisis detallado de los mecanismos de regulación de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6PGDH), tanto a "corto" como a "largo plazo" y analizando posteriormente todos aquellos procesos biológicos en los cuales el ciclo de las pentosas fosfato actúa como suministrador de precursores indispensables para el correcto funcionamiento celular.

De todas las etapas de este ciclo, son las correspondientes a la porción oxidativa, y en especial las reacciones catalizadas por la G6PDH y 6PGDH, en menor medida, los pasos limitantes en la velocidad del proceso en cierta medida lógico, teniendo en cuenta la posición que ocupa la G6PDH como punto de ramificación en el metabolismo de la glucosa.

2.- REGULACION DE LAS DESHIDROGENASAS DEL SEGMENTO OXIDATIVO DEL CICLO DE LAS PENTOSAS FOSFATO POR METABOLITOS.

2.1.- *Efecto de la razón NADPH/NADP sobre las actividades G6PDH y 6PGDH.*

La reacción catalizada por la G6PDH presenta dos características importantes: i) el producto intermediario es una lactona que rápidamente se hidroliza hasta 6-fosfogluconato (6PG) y por lo tanto se esperaría que toda la glucosa 6-fosfato (G6P) se transformara rápida y completamente en 6PG a no ser por ii) el fuerte efecto inhibitor de uno de sus productos, NADPH, sobre las actividades G6PDH y 6PGDH (1). Esta inhibición fue descubierta en levaduras por Negelein y Hass (2) y confirmada en otros medios (3). La inhibición es competitiva con el NADP, encontrándose completamente inhibida cuando la relación NADPH/NADP presenta un valor superior a 8 (1). Aunque existen dificultades para medir las concentraciones de ambos coenzimas en el interior de la célula, Veech et al. (4), calculan que el valor de la relación $[NADPH \text{ libre}] / [NADP \text{ libre}]$ en el interior de la célula es de 100; indicando la necesidad de mecanismos de desinhibición para que tengan lugar estas reacciones. Eggleston y Krebs (1) ensayan sobre cien constituyentes celulares encontrando que solo el glutation (GSSG) y el AMP (y este a concentraciones no fisiológicas) eran capaces de contrarrestar esta inhibición por el NADPH. Según ellos el efecto del GSSG no era directo, sino mediado por un cofactor dializable de peso molecular menor de 15.000 d. Descartaron que el efecto del GSSG estuviese mediado por la actividad glutation reductasa, ya que este enzima se encontraba inhibido en las condiciones del ensayo. Un efecto similar del GSSG y del cofactor fue descrito por Rodríguez-Segade et al. (5) en hepatopáncreas de mejillón, caracterizando este cofactor en homogenados hiposmóticos de hígado de rata y hepatopáncreas de mejillón como un polipéptido de rango molecular 10^4 — 1.5×10^5 d (6). Posteriormente, Nogueira et al. (7) han purificado parcialmente este cofactor en hígado de rata encontrando ser una proteína de peso molecular 10^5 d. El cofactor más ligero previamente descrito, fue aparentemente el resultado de actividad proteolítica generada durante el proceso de homogenización.

No obstante, Levy y Christoff (8) estudian el fenómeno de forma crítica y proponen que los resultados obtenidos por Eggleston y Krebs (1) y Nogueira et al. (7), son producto de algunos artefactos experimentales debidos al empleo de iones que interfieren en la medida de absorbancia, no encontrando evidencias de la existencia de un cofactor o de un efecto directo del GSSG sobre la G6PDH. Sugieren que el GSSG podría actuar indirectamente, vía glutation reductasa reoxidando el NADPH a NADP. En este sentido, Llobel et al. (9) demuestran que la regulación "in vitro" por GSSG de la G6PDH está mediada directamente por la reoxidación del NADPH catalizada por glutation reducta-

sa, no encontrando efecto desinhibidor directo del GSSG, hasta que no se añada de glutatión reductasa.

Otra posibilidad que se ha descrito recientemente es la activación de la G6PDH por parte de una tioltransferasa, molécula de rango molecular próximo al descrito por Eggleston y Krebs (1), que formaría una mezcla disulfuro entre GSSG y el enzima (10).

2.2.- *Efecto de Acyl-CoAs de larga cadena y poliamidas sobre las actividades G6PDH y 6PGDH.*

Otro elemento regulador de estas enzimas, lo constituye la pareja palmitoil CoA/poliaminas (11). La G6PDH de distintas fuentes es inhibida por derivados acil-CoA de cadena larga, entre los cuales, el palmitoil-CoA parece ser el más activo (12). Rodríguez-Torres et al. (13) detectan un inhibidor potente de G6PDH en homogenados de hígado de rata, que posteriormente identifican con el palmitoil CoA, actuando como un inhibidor competitivo respecto a la G6P y no competitivo respecto al NADP. *In vitro*, este mecanismo puede ser considerado como una inhibición feedback negativa de la lipogénesis teniendo en cuenta la relación estrecha entre ambos procesos.

Rodríguez-Torres y Ramos-Martínez (14) estudian el efecto de algunas poliaminas (espermina, espermidina, etilendiamina) sobre la inhibición de G6PDH por el palmitoil CoA, tanto en ausencia de NADPH como en relación con el cociente NADPH/NADP, encontrando que la espermina probablemente actúa específicamente sobre el palmitoil CoA desbloqueando su acción inhibidora y dejando esta función para el NADPH.

2.3.- *Efectos reguladores del amonio y los nucleótidos de adenina sobre las deshidrogenasas del segmento oxidativo del ciclo de las pentosas fosfato.*

La G6PDH de levaduras es inhibida por el amonio, mediante un mecanismo competitivo frente a los dos sustratos (15). Estos autores postulan que este efecto puede tener importancia en el control del metabolismo nitrogenado, regulando la cantidad de síntesis de glutamato dependiente de NADPH vía GDH.

Los efectos de nucleótidos de adenina sobre la G6PDH de levaduras fueron encontrados por diversos autores (16, 17). Describiéndose dos tipos de efectos del ATP, independientes el uno del otro; por un lado se comporta como un inhibidor competitivo de la G6P, y por otro se observan modelos de inhibición parcialmente competitiva, caracterizada por interacciones cooperativas entre sitios de unión del AMP y el NADP. Teniendo en cuenta que esta inhibición fue confirmada por otros medios (17, 18) y que las concentraciones intracelulares de ATP, ADP y AMP son de la misma magnitud a la de levaduras, se le ha dado a este mecanismo una gran importancia en la regulación de esta ruta. Rudack y Holten (19), demuestran que al igual que en otros enzimas

lipogénicos, tales como la ácido graso sintetasa y enzima málico, el AMP cíclico (AMPC) regula la velocidad de síntesis de G6PDH, sin alterar la velocidad de degradación del enzima.

3.- REGULACION NUTRICIONAL Y HORMONAL DEL SEGMENTO OXIDATIVO DEL CICLO DE LAS PENTOSAS FOSFATO.

Diversos factores dietarios y nutricionales están implicados en la regulación del metabolismo intermediario y en la concentración intracelular de enzimas específicos del metabolismo de carbohidratos y lípidos. En este contexto, se están utilizando las deshidrogenasas del ciclo de las pentosas fosfato como modelos para el estudio de la regulación nutricional y hormonal de los niveles enzimáticos. La regulación de G6PDH y 6PGDH en respuesta a estímulos nutricionales y hormonales se da coordinada con la de otros enzimas lipogénicos.

En general, se ha demostrado desde hace bastante tiempo (20, 21), que la G6PDH y en menor medida la 6PGDH de hígado de rata, se inducen cuando este órgano se ve sometido a condiciones lipogénicas tales como ayuno-realimentación (22), incrementando en un rango moderado el contenido de carbohidratos de la dieta (22), sustituyendo fructosa (24) o disacáridos comestibles por glucosa o almidón, y sustitución de la leche materna por una dieta normal (25). Igualmente, esta inducción se bloquea al incrementar la ingestión de grasa (26, 27), particularmente la de altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados (26-28). Así cuando las ratas son mantenidas en ayuno dos días y realimentadas con dietas con 60% de carbohidratos y libre de grasas durante cuatro días, el nivel de G6PDH incrementa 20-30 veces en relación a la proteína soluble en ese tejido (29).

Experimentos llevados a cabo con inhibidores de la síntesis de proteínas concluyeron que cuando se realimentaban con dietas ricas en carbohidratos, la inducción era debida a síntesis de nuevas moléculas enzimáticas (30-32), y parece que al realimentar con dietas balanceadas se activaban las moléculas ya preexistentes (31).

Wimberry y Holten (33), demuestran que cuando las ratas se alimentaban con dietas pobres en grasas, el incremento de 26 veces en la actividad G6PDH va acompañado con un gran cambio en la velocidad de síntesis de este enzima. Para la 6PGDH, Procsal et al. (34) observan que la regulación nutricional va acompañada enteramente por alteraciones en la síntesis de enzima. No obstante, otros autores, como Kelley et al. (35), usando técnicas ligeramente diferentes concluyen que la cantidad de proteína G6PDH no cambia durante experimentos ayuno-realimentación, proponiendo como posible mecanismo regular la inactivación irreversible del enzima por Acil-CoAs.

Apoyándose en la idea del aumento en la síntesis de enzima, Hutchinson y Holten (36) encuentran la primera evidencia de que la inducción de un enzima lipogénico (6PGDH) está asociada a un incremento en la concentración de su ARNm específico, para ello aislaron un ARN poly(A) de ratas en diferentes

estados nutricionales y lo tradujeron en un sistema de síntesis de proteínas libre de células empleando lisados de reticulocitos. Sin embargo, Sun y Holten (37), encuentran sólo un aumento de 2 ó 3 veces en la cantidad de ARNm para G6PDH frente a incrementos de 20-30 veces en la actividad enzimática, atribuyendo este cambio al incremento en la eficacia de traducción, además de un pequeño aumento en su ARNm específico.

Por otra parte, Miksicek y Towle (38) aislando ARNm específicos, atribuyen enteramente al aumento en la síntesis de éste el incremento de las actividades G6PDH y 6PGDH tanto en la inducción dietaria como por hormona tiroidea, cuestionando la validez del método empleado por Sun y Holten (37) para aislar ARNm específicos de tan baja frecuencia. De acuerdo con estos resultados, Stumpo y Kletzien (39) estudian los niveles de ARNm en hepatocitos aislados encontrando que cuando se induce la actividad G6PDH por realimentación con dieta rica en carbohidratos, existe un incremento paralelo en ARNm específico de unas 12 veces frente a los animales ayunados.

Posteriormente se desarrollaron sondas de ADN complementario (ADNc) para la medida directa de los niveles de ARNm específicos. En este sentido, Miksicek y Towle (40) obtienen una sonda de ADNc específica para el ARNm de la 6PGDH y sugiere que el gen de este enzima está probablemente presente en una sola copia en el genoma del ratón, concluyendo que la regulación de la síntesis de 6PGDH ocurre a nivel pretraduccional. De la misma forma Kletzien et al. (41) obtienen ADNc para el ARNm de la G6PDH concluyendo igualmente que la regulación de este enzima se dará a nivel anterior a la traducción, encontrando un incremento de 13 veces en la cantidad de ARNm específico que es paralelo al incremento en la actividad enzimática.

Otro enfoque para resolver este problema es el que considera la inducción dietaria de estos enzimas como el resultado último de una regulación hormonal. Trabajos previos han demostrado que la actividad G6PDH se incrementa en animales bajo la acción de insulina (29, 42), glucocorticoides (43, 44), hormonas tiroideas (38) y disminuye por glucagón (19).

Berdanier y Shubeck (44) utilizando ratas adrenalectomizadas, diabéticas y adrenalectomizadas-diabéticas examinaron la interacción de los glucocorticoides y la insulina en la inducción dietaria de la G6PDH hepática y demostraron que bajo el ayuno y posterior realimentación con dieta rica en carbohidratos no se incrementaba la actividad, al menos que se administrasen conjuntamente glucocorticoides e insulina, sugiriendo que el efecto de la insulina sobre la inducción estaba mediado a través de los glucocorticoides.

Stumpo y Kletzien (45) examinan la influencia de ambas hormonas en cultivos primarios de hepatocitos demostrando que los glucocorticoides por ellos mismos no tienen efecto sobre la actividad G6PDH pero amplificaban o tenían un efecto permisivo sobre la estimulación por insulina y que estos efectos eran el resultado de cambios en la síntesis de enzima, pudiendo actuar los glucocorticoides bien incrementando la concentración de ARNm o la velocidad de traducción de las moléculas ya existentes. En otro trabajo (39), ambos autores

analizan el efecto de ambas hormonas sobre la producción de ARNm específicos para la G6PDH en este sistema, encontrando que el incremento en la actividad y síntesis de G6PDH se correlacionaba con un aumento en la síntesis de ARNm al adicionar insulina o insulina + glucocorticoides. Este trabajo confirmaba los de Yoshimoto et al. (46) y sugiere que la insulina ejerce su efecto principalmente a nivel pretraduccional. Así, los glucocorticoides pueden regular la actividad y síntesis de G6PDH a nivel pretraduccional, mientras que la insulina además de actuar a este nivel, puede ejercer control sobre la traducción.

Stumpo y Kletzien (45) y Stumpo et al. (47) han descrito igualmente la acción del etanol, bien solo o en combinación con glucocorticoides e insulina, estimulando la síntesis de la G6PDH por medio de un incremento en la concentración de su ARNm específico.

Ya desde 1955 se conocía la influencia de las hormonas tiroideas sobre la actividad G6PDH. Así Glock y McLean (48) demuestran que la actividad G6PDH se deprimía en animales hipotiroideos y podía ser restaurada por la administración de tiroxina. Mariash et al. (49) demostraron que la actividad se incrementaba después de la administración de T_3 y que ese incremento se correlacionaba con un aumento en la síntesis de enzima. Mikcisek y Towle (38) usando un sistema de traducción *in vitro* cuantificaron los niveles de ARNm demostrando que la síntesis de G6PDH y 6PGDH observada tras la administración de T_3 era secundaria al aumento en su ARNm específico. En 1987, Fritz y Kletzien (50), estudian, mediante el uso de una sonda específica de ADNc, el efecto de la T_3 sobre los niveles de ARNm en hígado de ratas hipotiroideas, no observando correlación directa entre el aumento en la actividad enzimática y los niveles de ARNm a diferencia de lo observado por Mikcisek y Towle (38), concluyendo que la hormona regula la actividad G6PDH a nivel de traducción.

Otra hormona, antagonista de la insulina y que tiene un papel regulador de la actividad G6PDH es el glucagón. Rudack y Holten (19, 51), demuestran como el glucagón o AMPc inhiben la inducción de la G6PDH durante experimentos de ayuno-realimentación. Posteriormente muestran como la hormona actúa disminuyendo la velocidad de síntesis de proteína enzimática sin alterar la velocidad de degradación. Sin embargo, el glucagón no tiene efecto sobre la actividad 6PGDH. Estos efectos potencian el carácter regulador de esta hormona sobre el metabolismo glucídico y lipídico.

Otro punto de actuación del glucagón y la hormona tiroidea, es en la inducción de algunos enzimas lipogénicos durante el destete. Este periodo se caracteriza por un incremento en la actividad y cantidad de la G6PDH y enzima málico (52-54). Coincidiendo con el destete, se produce una caída en los niveles de glucagón plasmático (55) y un aumento en la insulina y corticosterona, disparándose algunas actividades enzimáticas. Back et al. (25) concluyen que la disminución del glucagón plasmático permite el aumento en la concentración

de hormona tiroidea responsable del aumento en la actividad G6PDH y enzima málico durante el destete.

4.- CICLO DE LAS PENTOSAS FOSFATO Y METABOLISMO RENAL.

Se acepta hoy que el metabolismo glucídico en riñón contribuye en gran medida al mantenimiento de los niveles de glucosa en todo el organismo (56), sobre todo en situaciones como el ayuno, diabetes, acidosis metabólica (57) y fallo hepático, en las que el riñón aporta entre el 50-90 % de la glucosa circulante (58-60). Igualmente se ha puesto de manifiesto la gran capacidad adaptativa de la glucolisis y gluconeogénesis renales en respuesta al ayuno y a diferentes situaciones nutricionales (61-66). Sin embargo, existen pocos trabajos en los que se estudie el comportamiento del ciclo de las pentosas fosfato en corteza renal ante diferentes situaciones nutricionales. En este sentido, se ha mostrado (67) que ante situaciones lipogénicas (alimentación con dieta rica en grasas) las deshidrogenasas del segmento oxidativo del ciclo no muestran variaciones significativas, es decir, la carencia de respuesta adaptativa del ciclo en riñón ante condiciones que en otros tejidos han producido una clara respuesta, se debe probablemente a la poca relevancia que la síntesis de lípidos tiene en este órgano; no obstante, sí que se encuentra una respuesta clara de ambas enzimas ante un aporte masivo de aminoácidos, alimentación con una dieta rica en proteínas (68) posiblemente ocasionada por un aumento en la síntesis de nuevas moléculas de enzima y relacionada con los procesos de crecimiento que tienen lugar en este órgano al suministrar este tipo de dietas.

El grupo de McLean estudia desde hace tiempo, la relación entre el ciclo de las pentosas, la diabetes experimental y la hipertrofia renal ocasionada en estas situaciones, encontrando una clara correlación positiva entre la actividad de éste y la extensión de la hipertrofia renal ocasionada (69-71); relacionándose el aumento en la velocidad del ciclo con el aumento de demanda de precursores biosintéticos de macromoléculas imprescindibles durante el crecimiento celular.

Otros autores (72, 73) obtienen resultados concordantes con los de estos grupos, en situaciones como la acidosis crónica y la diabetes experimental relacionadas ambas con procesos de crecimiento y proliferación celular en el riñón (71). En ambos casos parece ser el aumento en la síntesis de enzima el responsable del aumento en actividad enzimática.

AGRADECIMIENTOS: Este trabajo constituye la publicación 138 del grupo de Investigación "Drogas, Tóxicos ambientales y Metabolismo celular" del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Granada. J.P. es becario del P.F.P.I de la Junta de Andalucía.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Eggleston, L. y Krebs, H.B. (1974). *Biochem. J.* 138, 425-435.
- (2) Negelein, E. y Haas, E. (1935). *Biochem. Z.* 282, 206-220.
- (3) Sapag-Hagar, M., Lagunas, R. y Sols, A. (1973). *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 50, 179-185.
- (4) Veech, R.L., Eggleston, L.V. y Krebs, H.A. (1969). *Biochem. J.* 115, 609-619.
- (5) Rodríguez-Segade, S., Freire, M. y Carrión, A. (1978). *Biochem. J.* 170, 577-582.
- (6) Rodríguez-Segade, S., Carrión, A. y Freire, M. (1979). *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 89, 148-154.
- (7) Nogueira, M., García, G., Mejuto, C. y Freire, M. (1986). *Biochem. J.* 239, 553-558.
- (8) Levy, H.R. y Christoff, M. (1983). *Biochem. J.* 214, 959-965.
- (9) Llobel, A., López-Ruiz, A., Peinado, J. y López-Barea, J. (1988). *Biochem. J.* 249, 293-296.
- (10) Brigelius, R. (1985). In *Oxidative Stress* (Sies, H. ed) 243-272. Academic Press. London.
- (11) Mita, M. y Yasumasu, I. (1979). *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 86, 961-967.
- (12) Mita, M. y Yasumasu, I. (1983). *Arch. Biochem. Biophys.* 226, 19-26.
- (13) Rodríguez-Torres, A.M., Villamarín, A., Carballal, C., Vázquez-Illanez, M.D. y Ramos-Martínez, J.I. (1987). *Rev. Esp. Fisiol.* 43, 7-12.
- (14) Rodríguez-Torres, A.M. y Ramos-Martínez, J.I. (1987). *Rev. Esp. Fisiol.* 43, 119-122.
- (15) Mangiarotti, G., Garre, C., De Flora, A. y Bonsignore, A. (1965). *Ital. J. Biochem.* 14, 67-75.
- (16) Bonsignore, A., De Flora, A., Mangiarotti, M.A. y Lorenzoni, I. (1966). *Ital. J. Biochem.* 15, 453-456.
- (17) Avigad, G. (1966). *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 56, 1543-1551.
- (18) Brand, K., Deckner, K. y Musil, J. (1970). *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 351, 213-222.
- (19) Rudack, D. y Holten, D. (1975). *J. Biol. Chem.* 250, 3960-3965.
- (20) Fitch, W.M. y Chaikoff, I.L. (1960). *J. Biol. Chem.* 235, 554-557.
- (21) Yagil, G., Shimron, F. y Hizi, A. (1974). *Eur. J. Biochem.* 45, 189-200.
- (22) Tepperman, H. M. y Tepperman, J. (1958). *Diabetes.* 7, 478-485.
- (23) Baldwin, R.L., Ronning, M., Radanovics, C. y Plange, G. (1966). *J. Nut.* 90, 47-55.
- (24) Zakim, D., Pardini, R.S., Herman, R.H. y Sauberlich, H.E. (1967). *Biochim. Biophys. Acta.* 144, 242-251.
- (25) Back, D.W., Sohal, P.S., y Angel, J.F. (1985). *J. Nutr.* 115, 625-632.
- (26) Bartley, J.C. y Abraham, S. (1972). *Biochim. Biophys. Acta.* 260, 169-177.
- (27) Century, B. (1972). *J. Nutr.* 102, 1067-1078.
- (28) Musch, K., Ojakian, M.A. y Williams, M.A. (1974). *Biochim. Biophys. Acta* 337, 343-348.
- (29) Rudack, D., Chisholm, E.M. y Holten, D. (1971). *J. Biol. Chem.* 246, 1249-1254.
- (30) Tepperman, H.M. y Tepperman, J. (1963). *Advan. Enzyme. Regul.* 1, 121-134.
- (31) Acquarone, M.E., Garre, C. y Cancedda, R. (1965). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 42, 632-639.
- (32) Kogawa, Y., Kogawa, A. y Shimazono, N. (1964). *J. Biochem.* 56, 364-371.
- (33) Winberry, L. y Holten, D. (1977). *J. Biol. Chem.* 252, 7796-7801.
- (34) Procsal, D., Wimberry, L. y Holten, D. (1976). *J. Biol. Chem.* 251, 3539-3544.
- (35) Kelley, D., Watson, J., Mack, D. y Johnson, B.C. (1975). *Nutr. Rep. Int.* 12, 121-135.
- (36) Hutchinson, J.S. y Holten, D. (1978). *J. Biol. Chem.* 253, 52-57.
- (37) Sun, J.D. y Holten, D. (1978). *J. Biol. Chem.* 253, 6832-6836.
- (38) Micksicek, R.J. y Towle, H.C. (1982). *J. Biol. Chem.* 257, 11829-11835.
- (39) Stumpo, D.J. y Kletzien, R.F. (1984). *Eur. J. Biochem.* 144, 497-502.
- (40) Micksicek, R.J. y Towle, H.C. (1983). *J. Biol. Chem.* 258, 9575-9579.
- (41) Kletzien, R.F., Prostko, C.R., Stumpo, D.S., McLung, J.K. y Dreher, K.L. (1985). *J. Biol. Chem.* 260, 5621-5624.
- (42) Neprokoeff, C.M., Lakshmanan, M.R., Ness, G.C., Muesing, R.A., Kleinsek, D.A. y Porter, J. W. (1974). *Arch. Biochem. Biophys.* 162, 340-344.
- (43) Wurdeman, R., Berdanier, C.D. y Tobin, R.B. (1978). *J. Nutr.* 108, 1457-1461.
- (44) Berdanier, C.D. y Shubeck, D. (1979). *J. Nutr.* 109, 1766-1771.
- (45) Stumpo, D.J. y Kletzien, R.F. (1985). *J. Nutr.* 115, 123-130.
- (46) Yoshimoto, K., Nakamura, T., Niimi, S. y Ichimara, A. (1983). *Biochim. Biophys. Acta* 741, 143-149.

- (47) Stumpo, D.J., Probstko, C.R. y Kletzien, R.F. (1985). *Alcohol* 2, 168-172.
- (48) Glock, G.E. y McLean, P. (1955). *Biochem. J.* 61, 390-397.
- (49) Mariash, C.N., Kaiser, F.E. y Oppenheimer, J. H. (1980). *Endocrinology* 106, 22-27.
- (50) Fritz, R.S. y Kletzien, R.F. (1987). *Mol. Cell. Endocrinol.* 51, 13-17.
- (51) Rudack, D., Davie, B. y Holten, D. (1971). *J. Biol. Chem.* 246, 7823-7824.
- (52) Madvig, P. y Abraham, S. (1980). *J. Nutr.* 110, 90-99.
- (53) Madvig, P. y Abraham, S. (1980). *J. Nutr.* 110, 100-104.
- (54) Angel, J.F. y Back, D.W. (1981). *J. Nutr.* 111, 1805-1815.
- (55) Beaudry, M.A., Chiasson, J.L. y Exton, J.H. (1977). *Am. J. Physiol.* 233, E175-E180.
- (56) Krebs, H.A., Bennett, D.A.H., De Gasquet, P., y Yoshida, T. (1963). *Biochem. J.* 86, 22-27.
- (57) Kida, K., Nakajo, S., Kamiya, F., Toyama, Y., Nishio, T. y Hakagawa, H. (1978). *J. Clin. Invest.* 62, 721-726.
- (58) Lupiáñez, J.A., Faus, M.J., Muñoz-Clares, R. y Sánchez-Medina, F. (1976). *Febs Lett.* 61, 277-281.
- (59) Faus, M.J., Lupiáñez, J.A., Vargas, A. y Sánchez-Medina, F. (1978). *Biochem. J.* 174, 461-468.
- (60) Sánchez-Pozo, A., Lupiáñez, J.A., Corno, A., Pita, M.L. y Sánchez-Medina, F. (1983). *Molec. Physiol.* 3, 143-150.
- (61) García-Salguero, L., Peragón, J. y Lupiáñez, J.A. (1987). *Ars pharmac.* 28, 195-201.
- (62) García-Salguero, L. y Lupiáñez, J.A. (1988). *Mol. Cell. Biochem.* 83, 167-178.
- (63) García-Salguero, L. y Lupiáñez, J.A. (1988). *Int. J. Biochem.* 20, 943-950.
- (64) García-Salguero, L. y Lupiáñez, J.A. (1989). *Mol. Cell. Biochem.* 85, 91-100.
- (65) García-Salguero, L. y Lupiáñez, J.A. (1989). *Comp. Biochem. Physiol.* 92B, 67-74.
- (66) García-Salguero, L. y Lupiáñez, J.A. (1989). *Mol. Cell. Biochem.* 90, 99-110.
- (67) Peragón, J., Aranda, F., García-Salguero, L. y Lupiáñez, J.A. (1990). *Arch. Int. Physiol. Biochem.* En prensa.
- (68) Peragón, J., Aranda, F., García-Salguero, L., Vargas, A. y Lupiáñez, J.A. (1990). *Cell Biochem. Function.* 8, 11-17.
- (69) Steer, K.A., Sochor, M., González, A.M. y McLean, P. (1982). *Febs Lett.* 150, 494-498.
- (70) Steer, K.A., Sochor, M. y McLean, P. (1985). *Diabetes.* 34, 485-490.
- (71) Sochor, M., Kunjara, S., Greenbaum, L. y McLean, P. (1986). *Biochem. J.* 234, 573-577.
- (72) Peragón, J., Aranda, F., García-Salguero, L. y Lupiáñez, J.A. (1989). *Int. J. Biochem.* 21, 689-694.
- (73) Peragón, J., Aranda, F., García-Salguero, L., Corpas, F.J. y Lupiáñez, J.A. (1989). *Biochem. Int.* 18, 1041-1050.