

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR.  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

INTERFERENCIAS NUTRICIONALES SOBRE EL  
METABOLISMO GLUCÍDICO

García-Salguero, L.; Peragón Sánchez, J.; Barroso Albarracín, J. B. y  
Lupiáñez Cara, J. A.

RESUMEN

La gluconeogénesis es el proceso metabólico mediante el cual es sintetizada la glucosa a partir de precursores no glucídicos, tales como piruvato, lactato, glicerol y un gran número de aminoácidos. En mamíferos, la gluconeogénesis ocurre fundamentalmente en dos tejidos, el hígado y la corteza renal. Tradicionalmente se ha considerado al tejido hepático como el principal encargado del mantenimiento de los niveles de glucosa sanguíneos, mientras que la corteza renal sería el tejido capaz de aportar glucosa al organismo entero de una forma constante y reducida, sin cambios adaptativos aparentemente significativos. Sin embargo en los últimos años se ha puesto de manifiesto que el tejido renal es capaz de adaptarse a diferentes situaciones de incapacidad hepática varíe considerablemente. En este artículo se resume la adaptación de las diferentes rutas metabólicas que operan en cada tejido al estado nutricional y hormonal que domina en ese momento.

SUMMARY

Gluconeogenesis is defined as the metabolic process by which glucose is synthesized from non-glucidic precursors such as pyruvate, lactate, glycerol and a great number of aminoacids. In mammals, this process mainly take place in liver and renal cortex. Traditionally, the liver has been considered as the main responsible tissue in the maintenance in glycaemic homeostasis, whereas the renal cortex only provide glucose to the whole animal in a small and constant amount without significant adaptive changes. Nevertheless, during the last years it has been pointed out that renal tissue is able to adapt itself to different organic conditions characterized by hepatic metabolic failure or when the exogenous availability of macronutrients changes significantly. In this review, it is summarized the adaptive mechanisms of different metabolic pathways that take place in these tissues under the nutritional and hormonal conditions dominant in each moment.

## INTRODUCCIÓN

Se define a la gluconeogénesis como el proceso metabólico mediante el cual algunos tipos de células son capaces de sintetizar "de novo" glucosa a partir de precursores de naturaleza no glucídica. Entre estos precursores se incluyen al lactato y piruvato, procedentes generalmente del metabolismo glucídico; glicerol, suministrado por el organismo tras la degradación de los triacilglicéridos; y un gran número de aminoácidos procedentes del metabolismo proteico.

En mamíferos, la gluconeogénesis ocurre solo en dos tejidos, el hígado y la corteza renal. Por el contrario el proceso inverso a la formación de glucosa, conocido como glucolisis (consumo de glucosa hasta piruvato y lactato, o etanol y CO<sub>2</sub> en levaduras) tiene lugar en todas las células vivas.

La capacidad de síntesis de glucosa es de vital importancia para la supervivencia del animal. En cualquier momento de la vida del mismo se hace necesario mantener, dentro de unos límites aceptables, los niveles de glucosa sanguínea, a fin de permitir y facilitar el trabajo celular de aquellos tejidos que utilizan glucosa como combustible metabólico primario. Entre estos tejidos, podemos citar al cerebro, hematíes, médula renal, cristalino y córnea del ojo.

El proceso gluconeogénico permite al animal el mantenimiento de los niveles aceptables de glucosa en sangre bastante tiempo después de que toda la glucosa procedente de la dieta, en forma, generalmente, de sacarosa y diversos polisacáridos, se haya absorbido y utilizado completamente.

La síntesis de glucosa, se trata por tanto, de 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 parte, porque se trata de un proceso discontinuo debiéndose frenar su actividad considerablemente 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.

Por todo ello, el proceso gluconeogénico debe encontrarse sometido a una compleja red de regulación en la que juegan un papel importante, tanto las hormonas, que tradicionalmente se conocen como directoras del mismo, tales como insulina, glucagón, catecolaminas y glucocorticoides fundamentalmente, como el propio suministro de todos aquellos sustratos que iban a ser utilizados para la síntesis de glucosa, y que proceden tanto de la propia acción hormonal como del correspondiente a los macronutrientes que proporcionan las diferentes dietas.

Tanto unos como otros serán el último término responsables de los cambios que se producen en la actividad gluconeogénica durante las diferentes adaptaciones del organismo a situaciones tales como el ayuno, tanto en su fase inicial como prolongada, y el ejercicio, y de los cambios que caracterizan a los periodos perinatal y de lactancia. Siendo también responsables de los que tienen lugar en determinadas

condiciones patológicas tales como diabetes, acidosis aguda y crónica, insuficiencia adrenal y otras relacionadas con este metabolismo.

Tradicionalmente, se ha considerado al tejido hepático como el principal responsable del mantenimiento de los niveles de glucosa sanguíneos, tanto por su papel de almacenador de glucógeno, destinado no para su consumo sino para su distribución como glucosa al resto del organismo, como el ser el tejido encargado de llevar a cabo todos aquellos cambios adaptativos necesarios para suplir la falta de este combustible mediante su síntesis de novo ante todas aquellas situaciones celulares que se han comentado anteriormente.

De la misma manera, y de forma generalizada, se ha considerado a la corteza renal como el tejido capaz de aportar glucosa al organismo entero de una forma constante y fundamentalmente reducida, salvo en aquellos casos en que se requiera para llevar a cabo el específico metabolismo renal, sin que se aprecien cambios adaptativos aparentemente significativos especialmente en situaciones en las cuales el aporte exógeno de macronutrientes varíe considerablemente. Sin embargo existen varias razones que permiten pensar que esto no es así, y que por tanto la corteza renal juega un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis glucémica.

De hecho se ha puesto de manifiesto que el tejido renal es capaz de adaptarse a diferentes situaciones de incapacidad hepática, comprobándose como en algunos de estos casos la corteza renal contribuye con un alto porcentaje (hasta el 90%) al mantenimiento de los niveles de glucosa en sangre, existiendo para ello un auténtico fenómeno de adaptación de este tejido (1-5). Asimismo, en otros estudios se ha comprobado como los principales enzimas responsables de esta ruta biosintética son capaces de modular su actividad por medio de mecanismos moleculares semejantes a los que operan en hígado.

### *Efecto de diferentes situaciones nutricionales sobre el metabolismo glucídico*

Uno de los aspectos, desde el punto de vista metabólico, mas importantes para todos los organismos vivos lo constituye la adaptación de las diferentes rutas metabólicas que operan en cada tejido al estado nutricional y hormonal que domina en ese momento. El adecuado balance de estas vías metabólicas se consigue por el continuo intercambio de sustratos y productos entre los distintos órganos y tejidos, la actividad de las enzimas que en ellas participan y el supracontrol que sobre ellos ejercen las diferentes hormonas.

El destino de los nutrientes que proceden de la dieta dependerá de la situación metabólica existente; por ejemplo la glucosa se almacenará como glucógeno, se oxidará proporcionando energía o participará en el mantenimiento de la glucosa circulante.

En condiciones de una dieta rica en carbohidratos, se promueve un incremento de las vías de utilización de estos compuestos. Metabólicamente hablando, esto resulta en una mayor disponibilidad de energía, equivalentes reductores y esquele-

tos de carbono para los procesos biosintéticos celulares. Una vez satisfechos estos requerimientos se observa un aumento en la formación de material de reserva: glucógeno y triacilglicéridos.

Si es una dieta con exceso en proteínas, éstas se utilizarán como sustrato oxidable previa transformación en carbohidratos o grasa. Con este fin se inducen enzimas fundamentalmente del metabolismo nitrogenado y del ciclo de la urea.

En cambio una situación de ayuno requiere una capacidad de adaptación que incluye disminución de enzimas digestivas, de los procesos de absorción intestinal, de la transformación, utilización y distribución de nutrientes y la formación de material de reserva. Por el contrario se incrementan la movilización de grasa, su oxidación, la cetogénesis, gluconeogénesis y el catabolismo proteico. Cuando el ayuno persiste por más tiempo, el organismo se adaptará gradualmente tratando de satisfacer prioritariamente el requerimiento energético de los tejidos, proporcionando sustratos oxidables como glucosa, ácidos grasos y compuestos cetónicos.

Terminado este periodo viene el tiempo de ingesta, en el que se observaría el patrón metabólico opuesto y así observamos que en cada momento celular, la maquinaria metabólica se adapta a la situación por la que atraviesa, de ayuno o de alimentación.

### *Metabolismo glucídico durante el ayuno*

En las primeras horas de ayuno es importante el contenido de glucógeno hepático que mantendrá constantes los niveles de glucosa sanguínea (6,7).

Los principales factores responsables de los cambios metabólicos que ocurren durante el ayuno están asociados a un aumento en la concentración de glucagón en plasma y disminución en el nivel de insulina (8). El resultado es por una parte activación de la lipólisis en tejido adiposo y liberación de aminoácidos desde el músculo, y por otra parte son estimuladas la glucogenólisis y gluconeogénesis en hígado, e inhibida la glucólisis.

Cuando se trata de ayuno prolongado, los compuestos cetónicos adquieren importancia como combustible energético igualando o superando a la glucosa como fuente de energía para el cerebro (según el tiempo que se mantenga el ayuno). Asimismo en ayuno prolongado destaca la gluconeogénesis, sobre todo a partir del tercer día de ayuno (9). Recientemente hemos puesto de manifiesto que la corteza renal (y más concretamente la fracción proximal del túbulo renal) es capaz de responder al ayuno, incrementando significativamente el proceso gluconeogénico así como la actividad de uno de los enzimas claves de este proceso, la fructosa 1,6-bisfosfatasa (10).

La corteza adrenal es esencial en la adaptación metabólica al ayuno por sus efectos a nivel de tejidos periféricos e hígado y sus efectos permisivos en ciertas respuestas hormonales (11,12).

El ayuno produce un aumento significativo en la actividad fosfoenolpiruvato

carbosiquinasa tanto hepática como renal (10,13), que no parece estar mediado por cambios en la concentración de esteróides circulantes, ya que el incremento en la producción de glucosa es similar en animales normales y en adrenalectomizados (14). Y este aumento de actividad está asociado a nueva síntesis de enzima (15, 16).

La actividad glucosa 6-fosfatasa incrementa su actividad en ayuno, debido también a que hay una estimulación en la síntesis de enzima (17), mientras que en estas mismas circunstancias se reprime la síntesis de la hexoquinasa hepática (18).

Desde que Krebs y Eggleston (19) encontraron que la actividad de la piruvato quinasa hepática se incrementaba en ratas alimentadas con una dieta alta en carbohidratos, y disminuía durante el ayuno, se ha sugerido que este enzima juega un papel clave en la regulación del metabolismo glucídico bajo distintas situaciones nutricionales. Durante el ayuno disminuye la actividad de la piruvato quinasa debido a que la síntesis de este enzima se reduce considerablemente (20-22).

Por su parte, Kohl y Cottam (20), encontraron que la disminución de la actividad piruvato quinasa no era tan marcada como la de la cantidad de enzima, y en esa falta de correlación entre la cantidad de enzima y actividad indicaba cierto incremento en la actividad específica de la PK en ayuno. Sin embargo, Hopkirk y Bloxham (23), sí encontraron una actividad específica inferior en ayuno. Recientemente Cimbala y col. (24), utilizando un método muy sensible para la determinación de piruvato quinasa tipo L, encuentran resultados que concuerdan con los de Kohl y Cottam (20). Asimismo encuentran un gran incremento en la síntesis de piruvato quinasa en ratas alimentadas con una dieta alta en carbohidratos, que no concuerda con su actividad. Para explicar estos resultados sugieren la existencia de un precursor de la piruvato quinasa que sería el que aumenta su síntesis y que ha sido encontrado hasta ahora únicamente en hígado fetal humano (25).

Nuestros resultados indican que la piruvato quinasa no se afecta por el ayuno, no encontrando valores por debajo de los correspondientes a la actividad control, lo que estaría de acuerdo con el equilibrio existente entre los procesos de síntesis y degradación celulares del enzima durante esta situación nutricional (10).

Azzout y Peret (26, 27) no observan ningún cambio en la actividad piruvato quinasa durante las primeras 20 horas de ayuno, y si después de las 24 horas; además destacan la importancia de la presencia de fructosa 1,6-bisfosfato en el efecto de fosforilación que produce el glucagón en este enzima.

La cantidad de fructosa 1,6-bisfosfatasa no cambia durante un ayuno de 48 horas (22), mientras que sí disminuye la actividad de la 6-fosfofructo 2-quinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa en más del 50% después de 72 horas de ayuno (28). Igualmente el nivel de fructosa 2,6-bisfosfato presentó una gran disminución, incluso después de 24 horas de ayuno (28,29), aunque no se afecte la actividad del enzima, debido probablemente a la menor disponibilidad de sustrato por no existir apenas glucógeno en estas circunstancias.

La fructosa 2,6-bisfosfato es un importante metabolito activador de la fosfofructoquinasa (30,31), así como inhibidor de la fructosa 1,6-bisfosfatasa (32,33). La concentración hepática de este metabolito se encuentra sujeta no solo a regula-

ción hormonal, sino también nutricional. Así los niveles hepáticos de fructosa 2,6-bisfosfato en ratas ayunadas disminuyen un 80-90%, mientras que la adición de altas concentraciones de glucosa a hepatocitos de ratas ayunadas iguala estos niveles a los encontrados en hepatocitos de ratas alimentadas (30, 31, 34). La realimentación de ratas ayunadas con dieta ricas en carbohidratos incrementa los niveles de fructosa 2,6-bisfosfato de 2 a 5 veces a los encontrados en hígado de ratas alimentadas *ad libitum*.

### *Metabolismos glucídicos a partir de diferentes tipos de dietas*

La alimentación con una dieta alta en carbohidratos de animales que previamente habían sido sometidos a ayuno conlleva cambios opuestos a los descritos anteriormente.

Las dietas altas en carbohidratos promueven la glucolisis y lipogénesis, y elevan la relación insulina/glucagón por aumentar los niveles plasmáticos de insulina (35). Ratas alimentadas con este tipo de dietas presentan en hígado altas concentraciones de 6-fosfogluconato y fructosa 2,6-bisfosfato (36) que incrementa la glucolisis por activación de la fosfofructoquinasa (37-39) y piruvato quinasa (40) e inhibición de la fructosa 1,6-bisfosfatasa (32). Por el contrario los niveles de 6-fosfogluconato y fructosa 2,6-bisfosfato son bajos en ratas alimentadas con una dieta alta en proteínas (36).

La glucolisis se ve además favorecida por las dietas altas en carbohidratos por la inducción en la síntesis de glucoquinasa (41), y de piruvato quinasa (21-23).

En el caso de la corteza renal, nosotros hemos obtenido resultados que demuestran que este tejido es también capaz de adaptar su metabolismo a este tipo de dieta. Así, la glucolisis aumenta en las ratas alimentadas con una dieta alta en carbohidratos, a la vez que disminuye la gluconeogénesis, de acuerdo con los cambios que tienen lugar en la actividad de los principales enzimas reguladores implicados en ambos procesos (42).

La adaptación a dietas que son altas en proteínas cambia el metabolismo hepático hacia un gran transporte y degradación de aminoácidos, acompañado por una mayor gluconeogénesis (35).

Igualmente Krebs y col. (43) vieron que una dieta consistente únicamente en caseína y margarina elevaba la gluconeogénesis renal incluso más que el ayuno. Se elevan asimismo los niveles plasmáticos de glucagón (35) y según Demigné y col. (44), también existe un incremento de la insulina en las primeras horas, durante el periodo de máxima absorción de nutrientes.

Azzout y col. (45), señalan un aumento en la gluconeogénesis a las 5 horas del comienzo de la dieta hasta alcanzar un pico después de 11-24 horas; después prácticamente permanece constante hasta las 48 horas. De acuerdo con esto, nuestros resultados también muestran un aumento significativo de la capacidad gluconeogénica en túbulos proximales aislados de corteza renal de rata, así como

un incremento en la actividad de los enzimas gluconeogénicos, fructosa 1,6-bisfosfatasa y fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (46). La glucolisis, expresada como la formación de lactato+piruvato, cambia en dirección opuesta a la gluconeogénesis.

La actividad fosfoenolpiruvato carboxiquinasa hepática aumentó mucho el primer día de la dieta y después permaneció constante (35). El efecto del aumento de las proteínas en la dieta y de la adición de aminoácidos, investigada tanto in vivo como en hígado perfundido, resultó en un considerable incremento de la actividad PEPCK dentro de las 6 primeras horas. Este aumento fue independiente de la presencia de glucocorticoides y se debió a nueva síntesis de enzima, ya que la cicloheximida bloqueó totalmente este efecto (47).

Sin embargo, la actividad piruvato quinasa no disminuyó hasta el 4<sup>º</sup>-8<sup>º</sup> día del inicio de la dieta (35).

#### BIBLIOGRAFÍA

- (1) LUPIAÑEZ, J. A.; FAUS, M. J.; MUÑOZ-CLAREZ, R. and SÁNCHEZ-MEDINA, F. (1976). *FEBS Lett.*, 61: pp. 277-281.
- (2) FAUS, M. J.; LUPIAÑEZ, J. A.; VARGAS, A. and SÁNCHEZ-MEDINA, F. (1978). *Biochem. J.*, 174: pp. 461-468.
- (3) SÁNCHEZ-POZO, A.; LUPIAÑEZ, J. A.; GIL, A. and SÁNCHEZ-MEDINA, F. (1982). *Anal. Biochem.*, 127: pp. 159-163.
- (4) SÁNCHEZ-POZO, A.; LUPIAÑEZ, J. A.; CORNO, A.; PITA, M. L. and SÁNCHEZ-MEDINA, F. (1983). *Molecular Physiology*, 3: pp. 143-150.
- (5) SÁNCHEZ-POZO, A.; LUPIAÑEZ, J. A.; GIL, A.; VARGAS, A. M. and SÁNCHEZ-MEDINA, F. (1983). *Horm. Metabol. Res.*, 15: pp. 171-175.
- (6) HERS, H. G. (1976). *Ann. Rev. Biochem.*, 45: pp. 167-189.
- (7) GOLDSTEIN, D. E. and CURNOW, R. T. (1978). *Metabolism*, 27: pp. 315-323.
- (8) MARLISS, E. B.; AOKI, T. T.; UNGER, R. H.; SOELDNER, J. S. and CAHILL, G. F. Jr. (1970). *J. Clin. Invest.*, 49: pp. 2256-2270.
- (9) OWEN, O. E.; FELIG, P.; MORGAN, A. P.; WAHREN, J. and CAHILL, G. F. Jr. (1969). *J. Clin. Invest.*, 48: 574-583.
- (10) GARCÍA-SALGUERO, L. and LUPIAÑEZ, J. A. (1988). *Mol. Cell. Biochem.*, 83: pp. 167-178.
- (11) EXTON, J. H.; MILLER, T. B. Jr.; HARPER, S. C. and PARK, C. R. (1976). *Am. J. Physiol.*, 230: E163-E179.
- (12) CALDWELL, M. D.; LACY, W. W. and EXTON, J. H. (1978). *J. Biol. Chem.*, 253: pp. 6837-6844.
- (13) HANSON, R. W. and GARBER, A. J. (1972). *Am. J. Clin. Nutr.*, 25: p. 1010.
- (14) POGSON, C. I.; LONGSHAW, I. D.; ROOBOL, A.; SMITH, S. A. and ALLEYNE, G. A. O. (1976). In: *Gluconeogenesis. Its regulation in mammalian species*, (Hanson, R. W. y Mehlman, M. A. eds.) pp. 335-368, John Wiley and Sons. New York.
- (15) BEALE, E. G.; HARTLEY, J. L. and GRANNER, D. K. (1982). *J. Biol. Chem.*, 257: pp. 2022-2028.
- (16) CIMBALA, M. A.; LAMERS, W. H.; NELSON, K.; MONAHAN, J. E.; YOO-WARREN, H. and HANSON, R. W. (1982). *J. Biol. Chem.*, 257: pp. 7629-7636.
- (17) HERS, H. G. and HUE, L. (1983). *Ann. Rev. Biochem.*, 52: 617-653.
- (18) PILKIS, S. J. (1970). *Biochim. Biophys. Acta*, 215: p. 461.
- (19) KREBS, H. A. and EGGLESTON, L. V. (1965). *Biochem. J.*, 94: 3C-4C.
- (20) KOHL, E. A. and COTTAM, G. L. (1976). *Arch. Biochem. Biophys.*, 176: pp. 671-682.
- (21) CLADARAS, C. and COTTAM, G. L. (1980). *J. Biol. Chem.*, 255: pp. 11499-11503.

- (22) POOLE, G. P. and BLOXHAM, D. P. (1982). *Biochem. J.*, 204: pp. 89-95.
- (23) HOPKIRK, T. J. and BLOWHAM, D. P. (1979). *Biochem. J.*, 182: pp. 383-397.
- (24) CIMBALA, M. A.; LAU, D. and DAIGNEAULT, J. F. (1985). *Biochem. J.*, 226: pp. 299-303.
- (25) MARIE, J.; SIMON, M. P. and KAHR, A. (1982). *Biochim. Biophys. Acta*, 696: pp. 340-344.
- (26) AZZOUT B. and PERET, J. (1984 a). *Diabete and Metabolism*, 10: pp. 165-170.
- (27) AZZOUT, B. and PERET, J. (1984b). *Biochem. J.*, 218: pp. 975-981.
- (28) PILKIS, S. J.; CHRISMAN, T. D.; BURGESS, B.; McGRANE, M.; COLOSIA, A.; PILKIS, J.; CLAUS, T. H. and EL-MAGHRABI, M. R. (1983). *Adv. Enzyme. Regul.*, 21: 147-173.
- (29) PILKIS, S. J.; EL-MAGHRABI, M. R.; McGRANE, M. and CLAUS, T. H. (1982). *Federation Proc.*, 42: pp. 2623-2628.
- (30) RICHARDS, C. S. and UYEDA, K. (1982). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 109: pp. 394-401.
- (31) HUE, L.; BLACKMORE, P. and EXTON, J. H. (1981). *J. Biol. Chem.*, 256: pp. 8900-8903.
- (32) PILKIS, S. J.; EL-MAGHRABI, M. R.; PILKIS, J. and CLAUS, T. H. (1981). *J. Biol. Chem.*, 256: pp. 3619-3622.
- (33) FRANCOIS, J.; VAN-SCHAFTINGEN, E. and HERS, H. G. (1983). *Eur. J. Biochem.*, 134: pp. 269-273.
- (34) PILKIS, S. J.; CHRISMAN, T. D.; EL-MAGHRABI, M. R.; COLOSIA, A.; FOX, E.; PILKIS, J. and CLAUS, T. (1983). *J. Biol. Chem.* 258: pp. 1495-1503.
- (35) PERET, J.; FOUSTOCK, S.; CHANEZ, M.; BOIS-JOYEUX, B. and ASSAN, R. (1981). *J. Nutr.*, 111: pp. 1173-1184.
- (36) SOMMERCORN, J. and FREEDLAND, R. A. (1984). *J. Nutr.*, 114: pp. 1462-1469.
- (37) VAN-SCHAFTINGEN, E.; JET, M. F.; HUE, L. and HERS, H. G. (1981). *Proc. Natl. Aca. Sci. USA*, 78: pp. 3483-3486.
- (38) UYEDA, K.; FURUYA, E. and SHERRY, A. D. (1981). *J. Biol. Chem.*, 256: pp. 8679-8684.
- (39) SOMMERCORN, J.; STEWARD, T. and FREEDLAND, R. A. (1984). *Arch. Biochem. Biophys.*, 232: pp. 579-584.
- (40) SMITH, S. B. and FREEDLAND, R. A. (1981). *Am. J. Physiol.*, 240: pp. E279-E285.
- (41) SPENCE, J. T. and PITOT, H. C. (1979). *J. Biol. Chem.*, 254: pp. 12331-12336.
- (42) GARCÍA-SALGUERO, L. and LUPIAÑEZ, J. A. (1989). *Mol. Cell. Biochem.*, 85: pp. 91-100.
- (43) KREBS, H. A.; BENNETT, D. A. H.; De GASQUET, P.; GASCOYNE, T. and YOSHIDA, T. (1963). *Biochem. J.*, 86: pp. 22-27.
- (44) DEMIGNÉ, C.; FAFOURNOUX, P. and RÉMÉSY, C. (1985). *J. Nutr.*, 115: pp. 1065-1072.
- (45) AZZOUT, B.; CHANEZ, M.; BOIS-JOYEUX, B. and PERET, J. (1984). *J. Nutr.*, 114: pp. 2167-2178.
- (46) GARCÍA-SALGUERO, L. and LUPIAÑEZ, J. A. (1989). *Mol. Cell. Biochem.*, 90: pp. 99-110.
- (47) SEITZ, H. J.; TIEDGEN, M. and TARNOWSKI, W. (1980). *Biochim. Biophys. Acta.*, 632: 473-482.