

TREBALLS ORIGINALS

PARÀMETRES DEL METABOLISME ENERGÈTIC DURANT EL DESENVOLUPAMENT DE LA RATA

Ll. Arola *, A. Palou **, X. Remesar i M. Alemany ***

Introducció

Durant el desenvolupament, el nou organisme ha d'assolir un elevat grau d'eficiència en totes les seves funcions tant de pressa com puguí, tot mantenint un nivell d'homeostasi suficient per a permetre el funcionament dels seus sistemes vitals. En les primeres fases del desenvolupament la funció d'aportament de substrats energètics és a càrrec de l'organisme matern, que deixa així lliures les capacitats del nou organisme per a la seva organització i estructuració funcionals. Aquest aportament energètic podem dividir-lo en dues fases molt ben definides, la pre-natal o desenvolupament intra-uterí i la post-natal o alletament. En la primera fase, el fetus és dins el claustre matern on té totes les variables homeostàtiques controlades per la mare, i rep —a través de la placenta— tot el que necessita, tant materials plàstics com substrats energètics i oxigen. i la circulació materna s'endu els productes d'excreció. Després del naixement continua el subministrament de materials de la mare al nadís mitjançant la llet, material de natura fortament lipídica i proteica en la rata, amb un baix component glucídica (¹) que progressivament va essent modificada amb el deslletament fins a arribar a la dieta fonamentalment glucídica i de proteïna de baixa qualitat biològica dels adults. Així doncs, la maquinària metabòlica de la rata ha de adaptar-se a funcionar des del naixement primer a una dieta fortament lipídica i després a la dels adults, el que com-

(*) *Bioquímica. Facultat de Química (Tarragona). Universitat de Barcelona. Plaça Imperial Tàrraco, s/n. Tarragona*

(**) *Bioquímica. Facultat de Ciències. Universitat de Ciutat de Mallorca, Ctra. Valldemossa km. 7,5 Ciutat de Mallorca*

(***) *Fisiologia General. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Plaça de la Universitat. Barcelona-7*

porta importants canvis en la taxa de creixement (^{2 3}) i en la maquinària metabòlica (⁴).

Hem intentat aquí donar una ullada general a la dinàmica plasmàtica d'alguns índex de la funció metabòlica de l'animal a fi de treure una confirmació més generalitzada dels treballs parcials de diversos autors interessats en el tema (^{3 5 6 7}) amb la utilització d'animals mantinguts sota condicions concretes molt controlades.

Material i mètodes

Han estat utilitzades rates albines Wistar mantingudes sota temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) i il·luminació (12 hores llum/12 fosc) controlades, alimentades *ad libitum* amb pinso per a rata (Sanders) i aigua corrent. L'edat dels fetus va ésser controlada a partir de l'aparició d'espermatòzous als frotis vaginals de les femelles mantingudes en gàbies amb mascles adults. Als 19 i 21 dies de gestació les rates foren decapitades i llurs fetus separats per cessària. Tots els animals experimentals varen ésser decapitats, i recollida la sang amb gots heparinitzats, congelades peces de fetge i múscul estriat de la pota amb nitrogen líquid, per a la determinació de glicogen mitjançant la solubilització alcalina, precipitació amb etanol (⁸), hidròlisi àcida i valoració amb glucosa-oxidasa (⁹). La sang va ésser utilitzada per a la determinació de glucosa després de desproteïnitza-la amb el mètode de Somogyi (^{9 10}). El plasma va ésser separat per centrifugació, amb utilització per a la valoració enzimàtica de glucosa (⁹), glicerol (¹¹), aceto-acetat (¹²), beta-hidroxiburit (¹³) y lactat (¹⁴), després de desproteïnitza-lo amb àcid perclòric i neutralitzar el sobrenadant amb bicarbonat potàssic/KOH.

Una alíquota de plasma va ésser emprada per a la valoració dels nivells d'insulina mitjançant radio-immunoassaig (¹⁵) amb anticòs de porc i un patró de insulina de rata.

Resultats

A la taula I hom pot veure els pesos corporals dels animals utilitzats, així com els nivells de glicogen i paràmetres plasmàtics de la rata durant el seu desenvolupament. Els baixos nivells de glicogen al fetge durant el període d'al·letament i en part a la vida fetal, contrasten amb la poca variació dels nivells al múscul, que sols són significativament més baixos als 10 dies de vida post-natal.

La glucosa sanguínia i la plasmàtica són molt baixes a la vida fetal, amb canvis importants després del naixement, nivells sanguinis similars als dels controls i concentracions plasmàtiques més baixes durant tot el període estudiat.

TAULA I

Glicogen i components plasmàtics i sanguinis durant el desenvolupament pre i postnatal de la rata

Paràmetre	EDAT, dies	-2	1	5	10	20	30	Adults
	-4							
Pes corporal (g)	1,98 ± 0,14	5,35 ± 0,17	6,33 ± 0,30	10,15 ± 0,54	20,3 ± 1,2	29,1 ± 1,6	65,7 ± 5,1	192,5 ± 5,5
Glicogen hepàtic (g/100 g de rata)	0,101 ± 0,15*	0,30 ± 0,04*	0,007 ± 0,004*	0,14 ± 0,002*	0,02 ± 0,004*	0,097 ± 0,035	0,151 ± 0,027	0,17 ± 0,02
Glicogen muscular (g/100 g de rata)	—	—	0,099 ± 0,056	0,093 ± 0,01	0,038 ± 0,015*	0,116 ± 0,015	0,105 ± 0,072	0,11 ± 0,01
Glucosa sanguïnia (mM)	1,39 ± 0,03*	3,80 ± 0,44*	4,08 ± 0,31*	5,01 ± 0,12	5,98 ± 0,22	6,17 ± 0,21*	6,12 ± 0,11*	5,50 ± 0,11
Glucosa plasmàtica (mM)	2,51 ± 0,25*	5,84 ± 0,19*	6,92 ± 0,16*	4,94 ± 0,37*	5,62 ± 0,27*	7,11 ± 0,37*	6,87 ± 0,21*	8,52 ± 0,38
Lactat plasmàtic (mM)	12,52 ± 1,22*	8,72 ± 0,48*	1,48 ± 0,12*	0,83 ± 0,08*	1,36 ± 0,08*	1,36 ± 0,13*	1,53 ± 0,20*	3,48 ± 0,16
Glicerol plasmàtic (μM)	57,6 ± 10,2*	48,6 ± 5,8*	314 ± 41*	191 ± 20	363 ± 62*	237 ± 17*	170 ± 14	150 ± 17
Aceto-acetat plasmàtic (μM)	2,9 ± 0,9*	8,6 ± 1,5*	520 ± 48*	290 ± 35*	174 ± 22*	41 ± 8	20 ± 3	27 ± 4
β-hidroxi-butarat plasmàtic (μM)	33 ± 11	25 ± 6	501 ± 31*	394 ± 46*	488 ± 33*	173 ± 22*	36 ± 10	39 ± 12
Insulina plasmàtica (mU/l)	—	76 ± 4*	11,6 ± 5,8	10,7 ± 4,1	8,6 ± 1,4*	4,5 ± 3,2*	10,0 ± 4,7	21,0 ± 3,2

Les dades corresponen a la mitjana ± error típus de 5-8 animals per grup. Significativitat de les diferències amb els controls: * = $p < 0,05$.

Un canvi similar el trobem als nivells de lactat, molt alts a la vida fetal i significativament més baixos que en els dels controls al desenvolupament post-natal; situació relativament inversa a la que trobem en el cas del glicerol, amb nivells baixos als fetus i valors elevats als dies 1, 10 i 20 després del naixement.

Els nivells d'aceto-acetat són també més baixos als fetus i augmenten considerablement amb el naixement, i descendeixen progressivament cap al final de l'alletament. El beta-hidroxibutirat es comporta de manera similar, però les diferències no són significatives en els fetus.

Finalment, els nivells d'insulina varien considerablement, amb valors extremadament elevats a la vida fetal que baixen durant l'alletament, amb un mínim als 10-20 dies d'edat.

Discussió

Les dades presentades estan d'acord amb els importants canvis de dieta que la rata experimenta en néixer i amb el deslletament. Així, els nivells de glucosa a la sang i al plasma durant la vida fetal són molt baixos per a permetre un flux adequat d'aquest material energètic, principal per al funcionament dels fetus (^{8 16 17}) i que és fonamentalment glucolitzat fins a lactat (^{18 19 20}), el que facilita que l'ambient fetal sigui fortament reductor (predomini del beta-hidroxibutirat sobre l'aceto-acetat en el cas dels cossos cetònics). Els elevats nivells d'insulina semblen estar d'acord amb la situació fortament anabòlica (^{2 3}) del fetus i la baixa glucèmia observada. Cal remarcar que la compartimentació de la glucosa a la sang dels fetus és ben diferent de l'observada durant l'alletament, i és més similar a la dels adults, com hom pot observar comparant les dades per a la glucosa en sang i en plasma, d'acord amb dades prèviament publicades per nosaltres (²¹).

En néixer es produeixen canvis molt importants en el metabolisme glucídic de la rata, car les disponibilitats de glucosa han quedat fortament disminuïdes, i és substituïda com a substrat energètic pels lípids de la llet. Això es manifesta amb un fort descens dels nivells de glicogen hepàtic —que pràcticament desapareixen (^{3 22 23})— en una situació d'hipoglucèmia, mantinguda amb nivells d'insulina no diferents significativament dels dels controls (^{2 3}), cosa que sembla indicar una manca relativa de producció de glucosa, tot i que la gluconeogenesi està fortament incrementada (^{24 25 26}) com ho semblen indicar els baixos nivells de lactat circulants. La gluconeogenesi des de glicerol, que ja és activa des d'abans del naixement (²⁷), continua en aquesta fase, tot i que el considerable increment de la lipolisi genera quantitats considerables d'aquest metabòlit. La forta activació de la lipolisi durant les primeres fases de l'alletament (?) queda clarament manifestada pels considerables nivells de cossos cetònics, que són utilitzats molt activament pels diversos teixits de la rata (?) especial-

ment el cervell (²⁸), i que també són portats en forma de cossos cetònics per la llet com a sistema protector de la beta-hidroxibutirat deshidrogenasa cerebral (²⁹), el que permet que el cervell funcioni amb cossos cetònics sense utilitzar les grans quantitats de glucosa que utilitza en l'adult.

Al final de l'alletament, hom observa una atenuació de les tendències manifestades més amunt, amb una progressiva normalització de la glucèmia i la glucosa plasmàtica amb un descens en els nivells circulants de cossos cetònics i de glicerol, tot i que el lactat encara està molt baix, indicant una utilització activa d'aquest substrat en la gluconeogènesi. Les necessitats d'elements glucídics baixen com ho assenyala la normalització dels dipòsits de glicogen al fetge i al múscul. La insulina no sembla que sigui el motor principal d'aquests canvis donat que la variació en els seus nivells és en tots els casos molt baixa i sembla seguir més aviat les disponibilitats de materials energètics, fonamentalment glucosa. Així la baixada dels nivells d'insulina durant l'alletament cal interpretar-los fonamentalment com un mecanisme de conservació de glucosa, en dificultat la captació de glucosa pels teixits. En resum, podem dir que la química plasmàtica estudiada està d'acord amb les variacions de règim alimentari de la rata durant el seu desenvolupament i que en tot cas es manté plena-ment l'homeostasi energètica de l'animal.

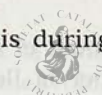
Resum

S'ha estudiat la variació dels nivells plasmàtics de glucosa, lactat, glicerol, cossos cetònics i insulina, així com la concentració tissular de glicogen al fetge i múscul estriat, durant el desenvolupament de la rata, en concret als 19 i 21 dies de vida fetal i als 1, 5, 10, 20 i 30 dies de vida post-natal. Els resultats obtinguts s'han comparat els de femelles adultes. Durant la vida fetal hom observa una hipoglucèmia, uns nivells baixos de cossos cetònics i de glicerol i uns nivells elevats de lactat i d'insulina. En la vida post-natal estudiada hi ha una clara hipoglucèmia, una hiper-cetonèmia, uns nivells baixos de lactat i uns nivells elevats de glicerol. Les dades obtingudes es discuteixen en relació al règim alimentari de l'animal i l'homeostasi general en el període estudiat.

Summary

Changes in plasmatic levels of glucose, lactate, glycerol, ketone bodies and insuline as well as tissue concentrations of glycogen in liver and striated muscle during embriological development of rats were compared to those from adult female rats. During embriological life there are low levels of glucose, ketone bodies and glycerol and elevated levels of lactate and insuline. During the studied post natal days low glucose and lactate were found with high leveus of glycerol and ketone bodies. The findings are

discussed in relation to the feeding regime and general homeostasis during the studied period.



Bibliografia

1. Dymsha, H.A., Czajka, D.M., Miller, S.A.: Influence of artificial diet on weight gain and body composition of the neonatal rat. *J. Nutr.* 84: 100, 1964.
2. Blázquez, E., Montoya, E., López-Quijada, C.: Relationship between insulin concentrations in plasma and pancreas of fetal weaning rats. *J. Endocrinol.* 48: 553, 1970.
3. Blázquez, E., Sugase, T., Blázquez, M., Foá, P.P.: The ontogeny of metabolic regulation in the rat, with special reference to the development of islet function. *Acta Diabet. Lat.* 9: 13, 1972.
4. Arola, L.L.: Estudi d'alguns aspectes del metabolisme dels aminoàcids durant el desenvolupament de la rata. Tesi doctoral. Universitat de Barcelona, 1978.
5. Fiser, H.F.: Glucose homeostasis during the perinatal period. A: «Diabetes and other endocrine disorders during pregnancy and in the newborn». M.I. New i R.M. Fiser, editors. New York, Alan R. Liss Inc., p. 33, 1976.
6. Girard, J.R., Cuendet, G.S., Marliiss, E.B., Kervran, A., Rieutort, M., Assan, R.: Fuels, hormones, and liver metabolism at term and during the early postnatal period in the rat. *J. Clin. Invest.* 52: 3190, 1973.
7. Lockwood, E.A., Bailey, E.: Some aspects of fatty acid oxidation and ketone body formation and utilization during development of the rat. *Biochem. J.* 120:49, 1970.
8. Good, C.A., Kramer, H., Somogyi, M.: The determination of glycogen. *J. Biol. Chem.* 100: 485, 1933.
9. Hugget, S.G., Nixon, D.A.: Use of glucose oxidase, peroxidase and o-dianisidine in determination of blood and urinary glucose. *Lancet*, 368, 1957.
10. Somogyi, M.: Determination of blood sugar. *J. Biol. Chem.* 160:69, 1945.
11. Eggstein, S.W., Kuhlmann, C.: Triglyceride and glycerol. Determination after alkaline hydrolysis. A: «Methods of enzymatic analysis», H.U. Bergmeyer, editor. New York, Academic Press, p. 1.825, 1974.
12. Mellanby, J., Williamson, D.H.: Acetoacetic acid. A: «Methods of enzymatic analysis». H.U. Bergmeyer, editor. New York, Academic Press, p. 1.840, 1974.
13. Williamson, D.H., Mellanby, J.: Beta-hydroxybutyric acid. A: «Methods of enzymatic analysis». H.U. Bergmeyer, editor. New York, Academic Press, p. 1.836, 1974.
14. Hohorst, H.H.: L(-)-lactate determination with lactate dehydrogenase and NAD⁺. A: «Methods of enzymatic analysis». H.U. Bergmeyer, editor, New York, Academic Press, p. 266, 1965.
15. Hales, C.N., Randle, P.J.: Immunoassay of insulin with antibody precipitate. *Biochem. J.* 88: 137, 1963.
16. Page, E.W.: Human fetal nutrition and growth. *Am. J. Obst. Gynec.* 104: 378, 1967.
17. Adam, P.A.J.: Control of glucose metabolism in the human fetus and newborn infant. *Adv. Metabolic. Disorders.* 5:183, 1971.
18. De Vos, M.A., Wilmink, C.W., Hommes, F.A.: Development of some mitochondrial oxidase systems of rat liver. *Biol. Neonate* 13: 83, 1968.
19. Hommes, F.A., Luit-De-Haan, G., Richters, A.R.: The development of some Krebs-cycle enzyme in rat liver mitochondria. *Biol. Neonate* 17: 15, 1971.
20. Kraan, G.P.B., Dias, T.: Size of L-lactate transport from the fetal rat to the mother animal. *Biol. Neonate* 26: 9, 1975.
21. Palou, A., Remesar, R., Arola, L.L., Alemany, M.: Blood and plasma glucose relationships during the breeding cycle and development of the rat. *Diabet. Metab.*, in press, 1981.

22. Burch, H.B.: Metabolic levels as indicator of changes during growth and development. *Biol. Neonate* 9: 176, 1965/66.

23. Ballard, F.J., Oliver, I.T.: Glycogen metabolism in embryonic chick and neonatal rat liver. *Biochim. Acta* 71: 578, 1963.

24. Snell, K., Walker, D.G.: Gluconeogenesis in the newborn rat. The substrates and their quantitative significance. *Enzyme*, 15: 40, 1973.

25. Vernon, R.G., Walker, D.G.: Glucose metabolism in the developing rat.

Studies «in vivo». *Biochem. J.* 127: 571, 1972.

26. Ballard, F.J.: The development of gluconeogenesis in rat liver. Controlling factors in the newborn. *Biochem. J.* 124: 265, 1971.

27. Gilbert, M.: Origin and metabolic fate of plasma glycerol in the rat and rabbit fetus. *Pediatr. Res.* 11: 95, 1977.

28. Itoh, T., Quastel, J.H.: Acetoacetate metabolism in infant and adult rat brain «in vivo». *Biochem. J.* 116: 641, 1970.



Láche de mujer

NAN



Nestlé

NAN