

## Glucosa, insulina, GH y aminoácidos plásmaticos en ratas sometidas a tres niveles de proteína dietarios

*E. Muñoz-Martínez<sup>1</sup>, Ma. T. Unzaga<sup>2</sup>, B. Jiménez Gancedo<sup>3</sup> y J.L. Rely de Viñas<sup>4</sup>*

Facultad de Farmacia  
Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

**RESUMEN** A fin de comprobar la influencia que la tasa proteínica y la razón glúcidos/proteína de la dieta, ejercen sobre el metabolismo hidrocarbonado y el patrón aminoacídico, se estudiaron las modificaciones que presentan los niveles de insulina, GH y glucosa plasmáticos, así como su relación con los aminoácidos gluconeogénicos y ramificados (AACR), en ratas sometidas a tres niveles de proteína dietarios (4% (grupo BP) 10% (grupo MP) 20% (grupo AP)). Los resultados obtenidos revelaron que la ganancia ponderal neta, la glucemia, la insulinemia y las razones insulina/glucosa (I/G) e insulina/GH (I/GH), se elevan en proporción al contenido proteínico de la dieta. Por el contrario, los niveles más altos en GH se registran con la dieta con 4% de proteína. Ello determina una mayor disponibilidad de nutrientes energéticos (I/GH) y una menor sensibilidad tisular a la insulina (I/G), cuanto más se eleva la proteína dietaria. Por otra parte, el aumento en la tasa de los aminoácidos ASP, SER, HIS, GLI y ALA señalan un menor gluconeogénesis en los animales del lote BP, mientras que el alza de los AACR, LEU, ILE Y VAL en las ratas del lote AP, sugiere una baja captación tisular de los mismos, ambos efectos mediados por la variación de la sensibilidad tisular a la insulina.

**SUMMARY** Effect of diet protein concentration on plasma glucose, insulin, GH and aminoacids levels in rats. The effect of dietary protein content on the variations in plasma insulin, GH, glucose and both gluconeogenic and branched-chain amino acids (BCAA) levels, was studied in Wistar rats. For 21 days animals consumed ad libitum diets containing 4% (LP group) 10% (MP group) or 20% (HP group) protein. Body weight gain and plasma concentrations of the glucose, insulin and both the insulin/glucose (I/G) and insulin/GH (I/GH) ratios varied directly with the protein content of the diet. In contrast the relationships between dietary protein content and GH levels, were inverse. These results indicate that an increase of energy yielding nutrients availability and an decrease of tissue sensitivity to insulin was produced as the protein content of the diet was increased. The increase of plasma aspartate, serine, histidine and alanine levels on LP group suggest a low gluconeogenic process, and the higher rate of BCAA on HP group against to MP and LP groups can be related to a lower tissue uptake. Both effects can be mediated by the tisular sensitivity to insulin.

### INTRODUCCION

Las modificaciones en el nivel proteínico y calórico de la dieta, así como su balance gluco/proteínico, influyen decisivamente sobre el patrón hormonal del individuo, lo que a su vez, origina modificaciones en el metabolismo glucídico.

Así, se ha señalado que el nivel proteínico dietario (1) es directamente proporcional a la tasa plasmática de insulina, aunque no se conoce el papel que la proteínica juega en el mecanismo de sensibilidad a la hormona. Además, la razón glúcidos/proteína parece influir también sobre el patrón hormonal en casos de déficit proteínico o energético (2).

En consecuencia, surge una disminución en los niveles plasmáticos y en la tolerancia tisular de la glucosa (3) en estados de malnutrición proteínica manteniéndose la glucemia constante (4) a través de una elevación de la gluconeogénesis, por efecto de una dieta hiperproteínica. A su vez, la formación de nueva glucosa parece depender de la relación entre los componentes proteínicos e

1 Profesor Titular de Fisiología, Sección Departamental de Fisiología Animal, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España.

2 Profesor Titular de Fisiología de la citada Universidad.

3 Doctorando.

4 Investigador del C.S.I.C.

hidrocarbonados de la dieta, mediante modificaciones en la disponibilidad de los aminoácidos, por los tejidos periféricos (5).

Por otra parte, dado que los niveles de la hormona somatotropa (GH), se modifican con la concentración de proteína de la dieta, y que por su acción antiinsulina puede generar hiperglucemia (6), es posible que contribuya a regular la disponibilidad de nutrientes en respuesta a distintos niveles de proteína dietaria.

Por todo ello, y a fin de comprobar la influencia que la tasa proteínica y la razón glúcidos/proteína de la dieta ejercen sobre el metabolismo hidrocarbonado y sobre el patrón aminoacídico, se estudiaron las modificaciones que presentan los niveles de insulina, GH y glucosa plasmáticos, así como su relación con los aminoácidos gluconeogénicos y los aminoácidos ramificados (AACR), en ratas sometidas a tres niveles proteínicos dietarios (4, 10 y 20%).

#### MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 30 ratas de la cepa Wistar con un peso inicial de  $160 \pm 10$ g, las que se dividieron aleatoriamente en tres grupos, sometidos "ad libitum" a tres niveles de proteína dietarios (caseína + DL metionina). 4% (grupo BP), 10% (grupo MP) y 20% (Grupo AP). La composición de la dieta fue publicada previamente (7).

Después de una semana de adaptación a la dieta, los animales se instalaron en células individuales de metabolismo, ubicadas en una habitación termorregulada a 23° e iluminada de 08 a 20 horas durante 21 días, controlándose la ingesta y el peso diariamente.

Las ratas se sacrificaron por decapitación en grupos de 10 animales y se exanguinaron, sin previo ayuno, a las 11:00 horas a.m. El plasma extraído se utilizó como material biológico. En una alícuota del plasma se determinó la tasa de glucosa mediante el kit de la glucosa-oxidasa-peroxidasa (Boehringer Mannheim S.A. Barcelona, España) y las de insulina y GH según las técnicas radioinmunológicas de Morgan (8) y Greenwood (9), respectivamente. En otra alícuota plasmática previamente extraída con etanol, se separó e identificó el patrón aminoacídico, por HPLC (10). Se calcularon asimismo, los índices insulina/glucosa (I/G) e insulina/GH (I/GH).

Los resultados se expresaron como valores medios  $\pm$  EE. El tratamiento estadístico de los datos obtenidos se hizo aplicando el test "t" de Student (11). La probabilidad menor de 0.05 se consideró significativa.

#### RESULTADOS Y DISCUSION

En este estudio se confirma que el contenido proteínico de la dieta influye, no sólo sobre los parametros ponderales, sino también sobre el metabolismo hidrocarbonado y aminoacídico de la rata, a través de alteraciones en el patrón hormonal.

Así, el incremento en peso es proporcional al contenido en proteínas de la dieta, de tal modo que la ganancia ponderal neta, el incremento en peso/día y el peso ganado día/calorías consumidas/día (Tabla 1), se elevan a medida que aumenta la concentración de proteínas, lo que dio lugar en los animales del lote BP, a una disminución en el crecimiento, típico de malnutrición (12).

TABLA 1  
INGESTA Y PARAMETROS PONDERALES DE RATAS SOMETIDAS A TRES NIVELES  
PROTEINICOS EN LA DIETA

	4% proteína (BP)	10% proteína (MP)	20% proteína (AP)
Ingesta g/rata/día	14.24 $\pm$ 0.38a	13.89 $\pm$ 0.33a	12.53 $\pm$ 0.56b
Calorías consumidas/día (kcal/d)	57.64 $\pm$ 0.20a	56.44 $\pm$ 0.30a	51.22 $\pm$ 0.38b
Glúcidos/proteína (Kcal consumidas/día/rata)	19.04 $\pm$ 0.20a	7.15 $\pm$ 0.30b	2.9 $\pm$ 0.35c
Peso inicial (g)	155.36 $\pm$ 4.30a	162.15 $\pm$ 4.78a	164.10 $\pm$ 1.73a
Peso final (g)	177.56 $\pm$ 5.38a	196.18 $\pm$ 4.76b	214.66 $\pm$ 3.16c
Incremento peso/rata/día (g/rata/d)	1.16 $\pm$ 0.25a	1.80 $\pm$ 0.36a	2.75 $\pm$ 0.34b
Ganancia ponderal neta (g)	22.16 $\pm$ 3.67a	33.95 $\pm$ 3.80b	50.11 $\pm$ 2.40c
Peso ganado día/calorías consumidas/día (g/kcal/d)	0.019 $\pm$ 0.01a	0.031 $\pm$ 0.01b	0.053 $\pm$ 0.01c
Eficiencia de conversión del alimento (ECA) <sup>1</sup>	0.08 $\pm$ 0.01a	0.13 $\pm$ 0.01b	0.22 $\pm$ 0.02c

Las letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (P < 0.05).

<sup>1</sup> ECA = Incremento de peso rata/día/g ingerida/rata/día.

TABLA 2  
GLUCOSA, INSULINA Y GH PLASMATICAS DE RATAS SOMETIDAS A  
TRES NIVELES PROTEINICOS EN LA DIETA

	4% proteína (BP)	10% proteína (MP)	20% proteína (AP)
Glucosa (mg/100ml)	141.47 ±16.79a	203.59 ±18.05b	262.41 ±25.20b
Insulina (μU/ml)	2.82 ±0.31a	16.58 ±1.04b	34.50 ±2.18c
Insulina/glucosa	0.01 ±0.002a	0.08 ±0.004b	0.12 ±0.014c
GH (μU/ml)	2.27 ±0.01a	0.93 ±0.09b	1.2 ±0.22b
Insulina/GH	1.24 ±0.14a	17.58 ±1.12b	28.75 ±1.09c

Las letras distintas indican diferencias significativas entre grupos ( $P \leq 0.05$ ).

El hecho de que la cantidad de alimento y de calorías consumidas sea menor y que la eficiencia de conversión del alimento en peso sea mayor en el grupo AP respecto al resto de los grupos, sugiere un mayor depósito de sustratos en los animales sometidos a la dieta del 20% de proteína. En este sentido, Donald (13) encuentra una disminución de la ingesta junto con un alto depósito de lípidos, en ratas sometidas a una dieta alta en proteína.

Las tasas plasmáticas de glucosa e insulina (Tabla 2) también varían en proporción directa a la concentración de proteína dietaria, dando lugar a un estado de hipoglucemia e hipoinsulinemia en los animales malnutridos (grupo BP), a pesar del aumento en la razón glúcidos/proteína de la dieta (Tabla 1). Es, pues, la deficiencia de proteína la causa principal de esta alteración, puesto que se mantiene el nivel energético en valores control ( $57.64 \pm 0.20$ ).

La reducción de la glucemia puede actuar además de acuerdo con Pimstone (14), como un factor de estimulación que explique el incremento de la tasa de GH plasmática hallado en el lote malnutrido (BP) respecto al de los otros dos lotes (Tabla 2). En cambio, la hiperinsulinemia producida en los animales sometidos al 20% de proteína (Tabla 2), parece depender del efecto insulínico de los aminoácidos.

Por otra parte, el mantenimiento de la glucemia en el lote AP podría relacionarse con el descenso en la razón carbohidratos/proteína de la dieta (Tabla 1), puesto que la velocidad de extracción de la glucosa circulante, disminuye con bajas cantidades de glúcidos dietarios (15).

Esta modificación hormonal supone el incremento de las razones insulina/GH e insulina/glucosa, que también resultan ser proporcionales al contenido proteínico de la dieta (Tabla 2). Este resultado sugiere que la disponibilidad de nutrientes energéticos es más alta (razón I (GH) y la sensibilidad tisular a la insulina más baja (razón I/G), cuanto más se eleva la proteína de la dieta (16, 17). La causa de la deficiente utilización de la glucosa en malnutrición, es para

Seene (18) la menor secreción de insulina y no las modificaciones en su acción periférica, mientras que el exceso de proteína parece originar el estado de resistencia a la insulina encontrado en ratas alimentadas con niveles altos de proteína (19).

Por lo tanto, el mantenimiento en la dieta de una proporción adecuada de carbohidratos y proteína, es esencial para controlar tanto los niveles plasmáticos de insulina, como la sensibilidad de los tejidos a la hormona, en especial durante la prevención o el tratamiento de la diabetes no insulino dependiente, puesto que la sustitución de los glúcidos por proteína en una dieta isocalórica, puede disminuir más la ya comprometida utilización de la glucosa por los tejidos.

El patrón aminoacídico también se encuentra influido por la concentración proteínica de la dieta, de modo que surge un incremento significativo de los aminoácidos no esenciales (AANE) plasmáticos en las ratas BP y AP, en contraste con las del lote MP, mientras que los aminoácidos esenciales (AAE) no se alteran (Tabla 3). Ello determina una disminución de la razón AAE/AANE en los animales sometidos al 4% y al 20% de proteína, sugerente de la disminución de la gluconeogénesis. Los niveles plasmáticos de ASP, SER, HIS y GLI y especialmente los de ALA, se incrementan en el lote BP (Tabla 3), lo que indica un posible descenso de su turnover y de su captación hepática (20), que podría estar mediado por el aumento en la sensibilidad tisular a la insulina registrado en estos animales. Del mismo modo, Gustafson (21) encuentra en ratas alimentadas con niveles de caseína comprendidos entre 0 y 28%, altas y bajas tasas de HIS, SER, GLI, ASP y GLU con bajas y altas concentraciones proteínicas, respectivamente.

El aumento de ALA, GLU y GLI en las ratas AP, parece estar también ligado a una menor gluconeogénesis, lo que sugiere que estos animales mantienen un nivel suficiente de sustratos energéticos, como ya se ha indicado. Por el

TABLA 3  
AMINOACIDOS PLASMATICOS ( $\mu\text{M}/100\text{ ml}$ ) DE RATAS SOMETIDAS A TRES  
NIVELES DE PROTEINA EN LA DIETA

	4% proteína (BP)	10% proteína (MP)	20% proteína (AP)
<b>AA glucogénicos</b>			
ALA	87.01 $\pm$ 16.53a	40.90 $\pm$ 3.29b	59.13 $\pm$ 4.80c
ASP	33 $\pm$ 1.03a	1.57 $\pm$ 0.47b	2.19 $\pm$ 0.44b
GLU	4.03 $\pm$ 0.75a	3.07 $\pm$ 0.88a	6.50 $\pm$ 0.78b
SER	15.03 $\pm$ 2.01a	4.43 $\pm$ 0.71b	8.35 $\pm$ 0.90c
HIS	115.05 $\pm$ 5.83a	49.54 $\pm$ 0.56b	43.20 $\pm$ 6.79b
TRE	6.73 $\pm$ 0.5a	33.99 $\pm$ 10.69b	20.92 $\pm$ 1.49b
GLI	18.98 $\pm$ 1.17a	5.42 $\pm$ 1.71b	39.04 $\pm$ 2.88c
<b>AA cadena ramificada (ACR)</b>			
LEU	9.28 $\pm$ 1.48a	9.02 $\pm$ 1.19a	15.99 $\pm$ 2.78b
ILE	5.13 $\pm$ 0.53a	5.44 $\pm$ 1.02a	8.15 $\pm$ 0.36b
VAL	11.25 $\pm$ 1.42a	11.99 $\pm$ 1.78a	17.76 $\pm$ 0.35b
AANE	158.00 $\pm$ 18.72a	63.9 $\pm$ 3.5b	118.36 $\pm$ 6.18c
AAE	174.23 $\pm$ 10.84a	145.56 $\pm$ 14.94a	173.94 $\pm$ 9.52a
AAE/AANE	1.10 $\pm$ 0.21a	2.27 $\pm$ 0.19b	1.43 $\pm$ 0.11a

Las letras distintas indican diferencias significativas entre grupos ( $P < 0.05$ ).

contrario, Peret (22) encuentra una elevada gluconeogénesis a partir de ALA y lactato, utilizando dietas muy altas en proteínas.

La captación tisular de los aminoácidos de cadena ramificada (AACR), por otra parte, parece estar disminuida en los animales del grupo AP, puesto que su extracción plasmática también es más baja, según demuestra el incremento en LEU, ILE y VAL encontrado en estas ratas, en relación a los grupos MP y BP (Tabla 3). Ello podría depender del aumento de la resistencia a la insulina provocada por la dieta del 20% de proteína, ya que esta acción hormonal es necesaria para la captación tisular de los AACR (12).

De todo ello se puede deducir que la concentración de proteína y la diferente relación glúcidos/proteína de la dieta, modifican el metabolismo aminoacídico y de la glucosa, a través de las variaciones de la GH plasmática y de la sensibilidad tisular a la insulina.

#### REFERENCIAS

1. Edozien, JC, N Niehaus, M Mar, T Makoui & BR Switzer. Diet hormone interrelationships in the rat. *J Nutr*, 108: 1767-1776, 1978.
2. Whitehead, RG & GAO Alleyne. Pathophysiological factors of importance in protein calorie malnutrition. *Brit Med Bull*, 28: 72-78, 1972.
3. Heard, CRC. The effects of protein energy malnutrition on blood glucose homeostasis. *Wld Rev Nutr Diet*, 30: 107-147, 1978.
4. Chanez, M, D Fau, B Boix-Joyeux & J Peret. Evolution de l'adaptation metabolique des rates nourries avec des régimes hyperproteiques. *Ann Biol Anim Bioch Biophys*, 18: 5, 1161-1172, 1978.
5. Munro, HN. Regulation of body protein metabolism in relation to diet. *Proc Nutr Soc*, 35: 297-308, 1976.
6. Milner, RDG. Hormonal and metabolic interrelationships in malnutrition. *Pediatrics*, 4: 213-217, 1970.
7. Marcos, A, P Varela, MT. Unzaga, E Muñoz Martínez, B Giménez Gancedo & G Varela. Nivel proteínico dietario durante la gestación. Su influencia sobre el reparto materno-fetal de sustratos. *Arch Latinoamer Nutr*, 36 (3): 443-445, 1986.
8. Morgan, CR & G Lazarov. Immunoassay of insulin: two antibody system plasma insulin levels of normal, subdiabetic and diabetic rats. *Diabetes*, 12: 115-126, 1963.
9. Greenwood, FC, WM Hunter & JS Glover. The preparation of 1131 labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem J*, 89: 114-123, 1963.
10. Barry, JM, S Prabo & S Strim. Aminoacid analysis and enzymatic sequence determination of peptides by an improved ophthalaldehyde precolum labeling procedure. *J Liquid Chromat*, 4 (4): 565-586, 1981.
11. Sokal, RR & FJ Rohlf. *Biometría: Los Principios y la Práctica de la Estadística en la Investigación Biológica*. H. Blume (Ed.). Madrid, Héroes, 1979, p. 145-194.

12. McCance, RA & EM Widdowson. Protein deficiencies and calorie deficiencies. *Lancet*, 2: 158-159, 1966.
13. Donald, P, GC Pitt & SL Pohl. Body weight and composition in laboratory rats. Effects of diets with high or low protein concentrations. *Science*, 211: 185-186, 1981.
14. Pimstone, BL, DI Becker & JDL Hansen. In: *Endocrine Aspects of Malnutrition*. JJ. Gardner and P Amacher (Eds.). Santa Inez, California, Kroc Foundation, 1973, p. 112.
15. Himsworth, HP The dietetic factor determining the glucose tolerance and the sensitivity to insulin of healthy men. *Clin Sci*, 2: 67-94, 1935.
16. McDowell, GH Hormonal control of glucose homeostasis in ruminants. *Proc Nutr Soc*, 42: 149-166, 1983.
17. Burt, RL & NH Leake. Glucose tolerance during pregnancy and the puerperium. *Obstet Gynecol*, 33: 634-638, 1969.
18. Swenne, I, CJ Grace & RDG Milner. Persistent impairment of insulin secretory response to glucose in adult rats after limited period of protein-calorie malnutrition early in life. *Diabetes*, 36: 454-458, 1987.
19. Gannon, MC, CB Niewoehner & FQ Nutall. Effect of insulin administration on cardiac glycogen synthase and synthase phosphatase activity in rats fed diets high in protein, fat or carbohydrate. *J Nutr*, 115: 243-251, 1985.
20. Broadbent, PG. & CRC Heard. Plasma aminoacid concentrations and ratios in different forms of protein energy malnutrition in rats. *Proc Nutr Soc*, 32: 48A, 1973.
21. Gustafson, JM, J Stewen, CB Roger & L Preston Mercer. Prediction of brain and serum free aminoacid profile in rats fed graded levels of protein. *J Nutr*, 116: 1667-1681. 1986.
22. Peret, JS Foustock, M Chanez, B BoixJoyeux & JL Robinson. Hepatic metabolites and amino acid levels during adaptation of rats to a high protein carbohydrate free diet. *J Nutr*, 111: 1704-1710, 1981.