

Navorsingsbriewe

Die invloed van melatonien op die vrystelling van vryvetsure deur lewerweefsel *in vitro*

Ontvang 22 Febr. 1989; aanvaar 18 September 1989

ABSTRACT

The influence of melatonin on the production of free fatty acids by liver tissue in vitro

The separate and combined addition of insulin and melatonin to incubated liver slices produced an increase in the free fatty acid concentration in medium after incubation. Compared to insulin the addition of melatonin produced a more dramatic increase in medium free fatty acid concentration. The combined addition of insulin and melatonin have an additive effect on liver tissue in the production of free fatty acids. The increase in the free fatty acid concentration in incubation media is probably caused by stimulation of intracellular lipolysis by melatonin.

Die sirkadiese vrystelling van melatonien uit die pineaalklier van soogdiere en die modulerende invloed daarvan op die gonade¹ asook ander endokriene kliere is welbekend.² Melatonien beïnvloed onder meer energiemetabolisme en gevolglik liggaamsmassa van proefdiere. Om genoemde invloed uit te oefen, is melatonien intiem betrokke by verskeie oorkoepelende pineaal-, gonadale, dieetafhanklike en dieetonaafhanklike meganismes.³ 'n Betekenisvolle korrelasie tussen melatoniensekresie en liggaams- en/of lipiedmassa is by mense aangetoon.⁴

'n Rare sindroom wat met pineaalhiperplasie gepaardgaan en in 1950 reeds deur Mendenhall beskryf is, kan moontlik meer lig op die wyduiteenlopende en ingewikkelde funksies van melatonien werp. Mendenhall se sindroom word, onder meer, deur pineaalhiperplasie, insulienweerstandbiedende diabetes asook 'n gepaardgaande ketoasidose gekenmerk.⁵ Dié insulienweerstand kan nie aan invloede van groeihormoon, kortisol, glukagon of adrenaliensekresie toegeskryf word nie. Ten spyte van diabetes en insulienweerstand, toon die enkele pasiënte met Mendenhall se sindroom wat ondersoek is, 'n normale vryvetsuurrespons tydens glukoseverdragingstoetse. Dit dui daarop dat hulle vetweefsel nie totaal weerstandbiedend teenoor insulien is nie.⁶ In teenstelling hiermee wyk die vryvetsuurrespons tydens glukoseverdraging in pineaal- onafhanklike diabetes mellitus van die normale verwagte patroon af.⁷⁻⁸ Die normale daling in plasmavryvetsure in Mendenhall se sindroom met buitengewone insulienweerstand, wat op orale glukose-inname volg, dui moontlik daarop dat die oormatige mobilisasie van vetsure en gepaardgaande ketose, nie primêr uit adiposiete plaasvind nie. Shoemaker⁹ en medewerkers het reeds in 1962 beweer dat die lewer vryvetsure tot die bloedsirkulasie toevoeg en dat insulien die vrystelling van vetsure uit die lewer beïnvloed.¹⁰

Aangesien ons reeds aanduidings gevind het dat melatonien oënskynlik glukosehomeostase in die lewer beïnvloed,¹¹ was dit dus voor die hand liggend om ook

vas te stel of melatonien en insulien enige invloed op die hantering van vryvetsure deur lewerweefsel uitoefen.

Uit inkubeerproewe met lewerskyfies van rotte in 'n glukosebevattende vetsuurvrye buffermedium waarby melatonien en insulien afsonderlik asook in kombinasie bygevoeg is, blyk dat beide genoemde hormone die vryvetsuurkonsentrasie in die buffermedium beïnvloed. Byvoeging van insulien het, per eenheidsmassa lewer, 'n matige toename in die totale vryvetsuurkonsentrasie van die medium veroorsaak. Daarenteen het byvoeging van slegs melatonien by lewerskyfies 'n uitgesproke toename in die totale vryvetsuurkonsentrasie per eenheidsmassa lewer veroorsaak. Die gesamentlike byvoeging van insulien en melatonien het by die meerderheid van geïnkubeerde lewerskyfies 'n vryvetsuurtoename in die medium teweeggebring wat dié van melatonien alleen oorskry. Uit laasgenoemde wil dit voorkom asof insulien en melatonien 'n sinergistiese invloed op die lewer in die produksie van vryvetsure uitoefen.

Die verhoging in die vryvetsuurkonsentrasie in die inkubeermedium van lewerskyfies waarby insulien gevoeg is, kan geredelik verklaar word. Aangesien lewerskyfies lipoproteïen¹² asook 'n lipoproteïenlipase (lewerlipase) vrystel,¹³ sal die hidrolise van triasielglicerole in lipoproteïene ekstrasellulêre produksie van vryvetsure veroorsaak. Die lewer absorbeer egter ook vryvetsure uit die inkubeermedium, sodat die werklike konsentrasie van vetsure in die inkubeermedium eenvoudig deur die produksie- en absorpsietempo daarvan bepaal sou word. Insulien onderdruk egter die opname van vryvetsure deur lewerweefsel *in vivo*¹⁴ asook *in vitro*.¹⁵ Hierdie invloed van insulien sal dus veroorsaak dat vryvetsure wat ekstrasellulêr geproduseer word, nie uit die inkubeermedium onttrek word nie. Die vryvetsuurkonsentrasie in die inkubeermedium styg gevolglik onder invloed van insulien.

Die ietwat verrassende resultaat ten opsigte van die invloed van melatonien op geïnkubeerde lewerskyfies

is uit verskillende eksperimente verkry waartydens 'n totaal van vyf verskillende rotte se lewers in die voorbereiding van lewerskyfies gebruik is. Ons is daarvan oortuig dat die verhoogde vryvetsuurinhoud van die inkubeermedia van rotlewerskyfies waarby melatonien gevoeg is, nie aan 'n foutiewe eksperimentele opstelling toe te skryf is nie. 'n Verklaring vir dié waargenome invloed van melatonien op lewerweefsel is egter nie sonder meer voor die hand liggend nie.

Indien van die veronderstelling uitgegaan sou word dat melatonien mikrotubuli vergiftig,^{16-17,18} sou verwag kon word dat die vrystelling van beide lipoproteïen¹⁹ asook lewerlipase²⁰ uit die lewer blokkeer sal word. Dit behoort teoreties 'n afname in die vryvetsuurkonsentrasie in die inkubeermedium te veroorsaak. Wanneer kolgisien egter by rothepatosiete gevoeg word om emeiositose te onderdruk, vind 'n geringe toename in die vryvetsuurkonsentrasie in die inkubeermedium plaas.²¹ Laasgenoemde verskynsel alleen kan egter nie die uitgesproke invloed van melatonien op die vryvetsuurkonsentrasie in die inkubeermedium van lewerskyfies verklaar nie.

By geïnkubeerde rothepatosiete is gevind dat 'n toename van vryvetsure in die inkubeermedium met lissosoomaktiwiteit in die hepatosiete korreleer.²² Die verhoogde vryvetsuurkonsentrasie in sowel die inkubeermedia van hepatosiete as dié van die lewerskyfies in die huidige ondersoek, sou dus toegeskryf kan word aan die hidrolise van intrasellulêre triasielgliserole deur lissosoomlipase. 'n Verhoogde vryvetsuurkonsentrasie in die inkubeermedium van lewerskyfies sal dus onder bepaalde omstandighede 'n direkte aanduiding van verhoogde intrasellulêre lipolitiese aktiwiteit in lewerweefsel wees.

Lipolise van endogene triasielgliserol in lewerweefsel kan met ketogenese gepaard gaan.²⁰ Onlangse navorsingsresultate uit ons navorsingslaboratorium dui daarop dat toevoeging van melatonien tot geïnkubeerde lewerskyfies, ook die ketoonskonsentrasie van die inkubeermedium betekenisvol verhoog. Die verduideliking van dié waargenome tendens is waarskynlik dat lipolise van endogene triasielgliserole in lewerweefsel gepaard gaan met ketogenese.²³ Indien melatonien 'n sterk lipolitiese invloed op lewerweefsel sou uitoefen, kan dit moontlik 'n verklaring bied vir sowel die verhoogde plasmavryvetsuurkonsentrasie asook die uitgesproke ketose by pasiënte met Mendenhall se sindroom.

Die toediening van addisionele melatonien by pasiënte met Mendenhall se sindroom het 'n byna onmiddellik waarneembare dosisafhanklike verlies in liggaamsmassa veroorsaak.⁶ Hierdie verskynsel kan moontlik ook met die lipolitiese invloed van melatonien op lewer in verband gebring word. Lipolise sou immers oksidasie van vetsure en ketogenese, met gepaardgaande ketonurie en massaverlies, bevorder.

Die ondersoek na die invloed van melatonien op lewerweefsel *in vitro* word tans voortgesit om die meganisme waardeur melatonien sy oënskynlik besonderse invloed uitoefen te ontrafel. Tot dusver is belowende resultate verkry.

OPSOMMING VAN RESULTATE

Rotlewerskyfies in Eagle se minimum essensiële medium, bevattende 3 mmol/l glukose en 73 µmol/l vryvetsuuralbumien, vir 90 minute geïnkubeer

Hormoonbyvoeging	µg Vryvetsuur/ml/mg Vars lewerweefsel
Geen	0.528 ± 0.157 (n=5)
Insulien (140 mE ml)	0.664 ± 0.235 (n=5)
Melatonien (28 µg ml)	0.840 ± 0.257* (n=5)
Insulien (140 mE ml) plus melatonien (28 µg ml)	1.196 ± 0.608* (n=5)

Waardes aangegee as gemiddeldes ± SA

* < 0.05 (Volgens standaardfout van verskil tussen gemiddeldes)

F.A. MÜLLER, J.M.C. OOSTHUIZEN* en I. REYNEKE

Dept. Fisiologie, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Posbus 339, Bloemfontein 9300

M.S. BORNMAN

Roodeplaat Navorsingslaboratoriums, Pretoria 0002

B.J. MEYER

Dept. Kerngeneeskunde, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

*Outeur aan wie korrespondensie gerig kan word.

LITERATUURVERWYSINGS

- Reiter, R. J., Richardson, B.A. & King, T.S. (1983). In *The Pineal Gland*, Reiklin, R. ed (Elsevier Biomedical, New York) p. 152.
- Reiter R.J. (1982). *The Pineal*, volume seven (Eden Press Incorporated, Montreal) p. 158.
- Bartness, T.J. & Wade, G.N. (1984). Photoperiodic control of body weight and energy metabolism in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*): Role of pineal gland, melatonin, gonads and diets. *Endocrinology*, 114, 492-498.
- Arendt, J., Hampton, S., English, J., Kwasowski, P. & Marks V. (1982). 24-Hour profiels of melatonin, cortisol, insulin, C-peptide and GIP following a meal and subsequent fasting. *Clin Endocrinol*, 16, 89-95.
- Rabson, S.M. & Mendenhall, E.N. (1956). Familial hypertrophy of pineal body, hyperplasia of adrenal cortex and diabetes mellitus. *Am J Clin Path*, 26, 283-290.
- West, R.J., Lloyd, J.K. & Turner, W.M.L. (1975). Familial insulin-resistant diabetes, multiple somatic anomalies and pineal hyperplasia. *Archives of disease in childhood*, 50, 703-708.
- Hales, C.N. & Randle, P.J. (1963). Effects of low-carbohydrate diet and diabetes mellitus on plasma concentrations of glucose, non-esterified fatty acid, and insulin during oral glucose-tolerance tests. *The Lancet*, 1, 790-794.
- Gola, A., Frydecka, I. & Slonczewski, B. (1972). Free Fatty acids curve in normals during the oral glucose tolerance test. *Clim Chim Acta*, 38, 127-130.
- Shoemaker, W.C., Carruthers, P.J., Elwyn, D.H. & Ashmore, J. (1962). Effect of insulin on fatty acid transport and regional metabolism. *Am J Physiol*, 203(5), 919-925.
- Shoemaker, W.C. & Elwyn, D.H. (1969). Liver: Functional interactions within the intact animal. *Ann Rev Physiol*, 38, 227-268.

11. Müller, F.A., Oosthuizen, J.M.C., Bornman, M.S. & Meyer, B.J. (1988). Die klaarblyklike invloed van melatonien op glukosehomeostase in die lewer, *S A Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie*, 7, no. 21988, 85-86.
12. Radding, C.M. & Steinberg, D. (1960). Studies on the synthesis and secretion of serum lipoproteins by rat liver slices, *J Clin Invest*, 39, 1560-1569.
13. Mosinger, B. & Vavrinkova, H. (1965). The effect of starvation on the lipolytic systems catalysing the hydrolysis of intracellular and extracellular lipids in rat liver, *Physiol bohemoslov*, 14, 439-445.
14. Woodside, W.F. & Heimberg, M. (1976). Effects of anti-insulin serum, insulin, and glucose on output of triglycerides and on ketogenesis by the perfused rat liver, *J Biol Chem*, 251, 13-23.
15. Fine, M.B. & Williams, R.H. (1960). Effect of fasting, epinephrine and glucose and insulin on hepatic uptake of nonesterified fatty acids, *Am J Physiol*, 199(3), 403-406
16. Banerjee, S. & Margulis, L. (1973). Mitotic arrest by melatonin, *Exp Cell Res*, 78, 314-318.
17. Malawista, S.E. (1975). Microtubules and the movement of melatonin granules in frog dermal melanocytes, *Ann NY Acad Sc*, 253, 702-710.
18. Poffenbarger, M. & Fuller, G. M. (1976). Is melatonin a microtubule inhibitor? *Exp Cell Res*, 103, 135-141.
19. Stein, O. & Stein, Y. (1973). Colchicine-induced inhibition of very low density lipoprotein release by rat liver *in vivo*, *Biochim et Biophys Acta*, 306, 142-147.
20. Chajek, T., Friedman, G., Stein, O. & Stein, Y. (1977). Effect of colchicine, cycloheximide and chloroquine on the hepatic triacylglycerol hydrolase in the intact rat and perfused liver, *Biochim et Biophys Acta*, 488, 270-279.
21. Müller, F.A. (1986). Die vrystelling van vetsure deur lewerweefsel *in vitro*. Ph D-proefskrif, Universiteit van die Oranje-Vrystaat, Bloemfontein, p. 95.
22. Duec, P., Pegorier, J., El Manoubi, L., Herbin, C., Kohl, C. & Girard, J. (1985). Hepatic triglyceride hydrolysis and development of ketogenesis in rabbits, *Am J Physiol*, 249(12), E478-E484.
23. Bewsher, P.D. & Ashmore, J. (1986). Ketogenic and lipolytic effects of glucagon on liver, *Biochemical and biophysical research communications*, 24, no. 3, 431-436.