

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

FACULTAD DE FARMACIA



Trabajo Fin de Grado

Regulación del metabolismo de carbohidratos a nivel transcripcional por: insulina, glucosa y glucagón

TITULACIÓN: GRADO EN FARMACIA

AUTOR: Cristian Alemán Rivero

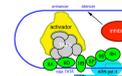
TUTOR: Antonio F. Rodríguez del Castillo

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Alteraciones congénitas del metabolismo

ÁREA DE CONOCIMIENTO: Bioquímica

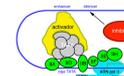
FACULTAD: Ciencias de la Salud – Sección de Farmacia

La Laguna, septiembre 2017



ÍNDICE

	Pág.
Abstract:	3
Palabras clave.	3
Abreviaturas	3 a 4
1.- Introducción	4
2.- Objetivos	4
3.- Material y métodos	4
4.- Resultados:	4 a 20
4.1- Control de la expresión y secreción de insulina.	
4.2- Acciones de la insulina (activación de las vías de las MAP kinasas y de la fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K).	
a) Visión general de estas rutas.	
b) Estructura del receptor de insulina.	
c) Activación de las MAP kinasas	
d) Activación de la vía de la fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K)	
e) Translocación del transportador de glucosa Glut 4	
f) Regulación del metabolismo del glucógeno	
g) Regulación de la síntesis de proteínas	
h) La insulina regula negativamente la expresión génica	
i) La insulina regula a SREBP 1-c y la expresión de genes lipogénicos	
4.3.- Glucosa-insulina regulan la transcripción de genes involucrados en el metabolismo de la glucosa	
4.4.- Regulación del metabolismo en el ayuno: acciones del glucagon	
5.- Conclusiones	20 a 21
6.- Referencias Bibliográficas	21
7.- Anexos	22 a 27



Resumen

En la presente revisión hemos recopilado y analizado los mecanismos moleculares por los cuales la insulina, la glucosa y el glucagon generan una señal que se propaga intracelularmente activando y/o inhibiendo los niveles de expresión de determinados genes de enzimas implicadas en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. Los efectos analizados fueron:

a) Insulina; hemos analizado la estructura de su receptor y las dos cascadas principales de señalización; la dependiente de ras-MAPK y la dependiente de PI3K-Akt. Dentro de esta última hemos tratado su participación en procesos como: hidrólisis de cAMP (inhibición del glucagon), síntesis de glucógeno, síntesis de proteínas, transporte de glucosa (Glut 4), síntesis de enzimas lipogénicos (SREB-1c) e inhibición de enzimas de la gluconeogénesis (FOXO).

b) Glucosa; se ha estudiado el papel de factor de transcripción ChREBP en la expresión de los genes L-PK, ACC y FAS.

c) Glucagon; en este apartado hemos analizado la acción del factor CREB y coactivadores en la inducción de enzimas gluconeogénicos.

Por último, hemos recopilado un modelo que trata de explicar a nivel molecular las transiciones del ciclo ingesta-ayuno o viceversa.

Abstract:

In the present review we have compiled and analyzed the molecular mechanisms by which insulin, glucose and glucagon generate a signal that propagates intracellularly by activating and/or inhibiting the expression levels of certain enzyme genes involved in carbohydrate metabolism and lipids. The effects analyzed were:

A) Insulin; we have analyzed the structure of its receiver and the two main signaling cascades; the ras-MAPK-dependent and the PI3K-Akt-dependent. The last one we have been involved in processes such as: hydrolysis of cAMP (glucagon inhibition), glycogen synthesis, protein synthesis, glucose transport (Glut 4), synthesis of lipogenic enzymes (SREB-1c) and inhibition of enzymes of gluconeogenesis (FOXO).

B) Glucose; the role of ChREBP transcription factor in the expression of L-PK, ACC and FAS genes has been studied.

C) Glucagon; in this section we have analyzed the action of factor CREB and coactivators in the induction of gluconeogenic enzymes.

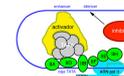
Finally, we have compiled a model that tries to explain at the molecular level the transitions of the feed-fast cycle.

Palabras Clave

Transcriptional regulation of metabolism, regulation of glucose metabolism, pathway of insulin and glucagon, Gsk3 β , Akt, Srebp-1c, CREB and FOXO.

Abreviaturas

PDX1: pancreatic duodenum homeobox; **PI3K**: fosfatidilinositol 3-quinasa; **IR**: receptor de insulina humano; **MAP quinasas**: quinasas activadas por mitógenos; **PIP3**: (fosfatidilinositol 3,4,5-trisfosfato); **Akt** o **PKB**: proteína kinasa B; **GLUT4**: transportador de glucosa 4; **SREBP-1c**: proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides 1c; **ChoRE**: elementos de respuesta a hidratos de carbono; **ChREBP**: proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos; **PKA**: proteína quinasa A; **CREB**: proteína de unión al elemento de respuesta de cAMP; **PGC1 α** :



coactivador del receptor activador de la proliferación de peroxisomas γ -1 α ; **CBP**: proteína de unión a CREB; **FOXO1**: forkhead box o1.

1.- Introducción

En los mamíferos, la manera más importante de almacenar la energía son los triglicéridos. Éstos se pueden sintetizar a partir de ácidos grasos de la dieta; o alternativamente, a partir de los ácidos grasos sintetizados de novo a partir de acetil-CoA (lipogénesis). En mamíferos este proceso ocurre principalmente en el hígado y tejido adiposo. Los carbohidratos, y la glucosa en particular, son una fuente de energía nutricional vital en mamíferos; y una fuente importante de acetil-CoA para la producción de ácidos grasos y triglicéridos.

Las hormonas pancreáticas insulina y glucagón desempeñan un papel central en la homeostasis de la glucosa y los ácidos grasos. La insulina estimula la utilización y almacenamiento de glucosa como glucógeno y triglicéridos. El glucagón tiene efectos opuestos a estas acciones y estimula la síntesis de glucosa y la degradación de triglicéridos (ciclo ingesta-ayuno).

En el metabolismo las rutas metabólicas se regulan a través de un control fino de la actividad de enzimas clave, por moduladores alostéricos y/o modificaciones covalentes. En este caso, la expresión de muchas enzimas glicolíticas y lipogénicas también es regulada en respuesta a la composición de la dieta. Esta respuesta adaptativa se produce, en gran parte, a través de la transcripción regulando la expresión de genes que codifican enzimas glicolíticas y lipogénicas. En este sentido, La glucosa per se, también ha sido implicada como una señal independiente para controlar la síntesis de enzimas lipogénicas [1].

En el presente trabajo vamos a revisar los mecanismos intracelulares por los cuales la insulina, la glucosa y el glucagón pueden generar una señal que se propaga para modificar los niveles de expresión de los genes de las enzimas implicadas en el metabolismo de hidratos de carbono y lípidos.

2.- Objetivos

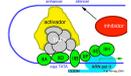
El objetivo del trabajo es buscar y analizar en la bibliografía actual, los mecanismos moleculares responsables de la elevación/descenso en la concentración de determinadas enzimas; después de la ingesta (carbohidratos p ej.), y en el espacio entre comidas o el ayuno (ver [anexo III](#) para detalles).

3.- Material y métodos.

Las fuentes de información utilizadas en la elaboración del presente trabajo han sido principalmente fuentes secundarias, es decir, buscadores científicos y/o páginas webs tales como: NCBI, Uniprot, PubMed, etc. y libros de texto. Así mismo, se han utilizado trabajos originales de investigadores (fuentes primarias) cuando fue necesario, durante el periodo de recogida de datos y elaboración del trabajo. La bibliografía es en inglés y español.

4.- Resultados:

En los [anexos I y II](#); se presenta una descripción de algunas de las principales rutas metabólicas de hidratos de carbono y lípidos. En [el anexo III](#), [las figuras 17 y 18](#), muestran aquellas enzimas sometidas a cambios de su concentración durante la ingesta o el ayuno respectivamente.



Regulación transcripcional del metabolismo por hiperglucemia.

4.1.- Control de la expresión y secreción de insulina.

Los altos niveles de glucosa influyen en la expresión génica directamente o a través de la estimulación de la producción de insulina por las células β del páncreas.

La pro-insulina es sintetizada en las células β del páncreas, que por proteólisis se escinde en insulina y péptido C. La hormona es almacenada en vesículas de secreción y su liberación está directamente ligada a un mecanismo de detección de la disponibilidad de glucosa a través de un aumento de la relación intracelular ATP / ADP que está correlacionado con la entrada y el metabolismo de la glucosa en las células β figura 1.

Uno de los factores de transcripción implicado es PDX1 (pancreatic duodenum homeobox), es el factor sensible a la glucosa; de hecho la glucosa provoca la fosforilación de PDX1 por acción de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K), produciendo su translocación al núcleo, aumentando la expresión de insulina. Otros factores de transcripción y/o coactivadores activados por la glucosa contribuyen a la respuesta de la glucosa-PDX1 mediada por insulina. Además de HNF3/FOXA2, que regula positivamente a PDX1, otros miembros de la familia HNF, HNF1 α , HNF1 β , y HNF4 α también se expresan en las células β del páncreas. La diabetes de la madurez en los jóvenes (MODY) *The maturity-onset diabetes of youth* ha puesto de relieve la importancia de esta red de factores de transcripción, actuando directamente o a través de una cascada de regulación transcripcional sobre la expresión génica de la insulina y posiblemente sobre su secreción [2].

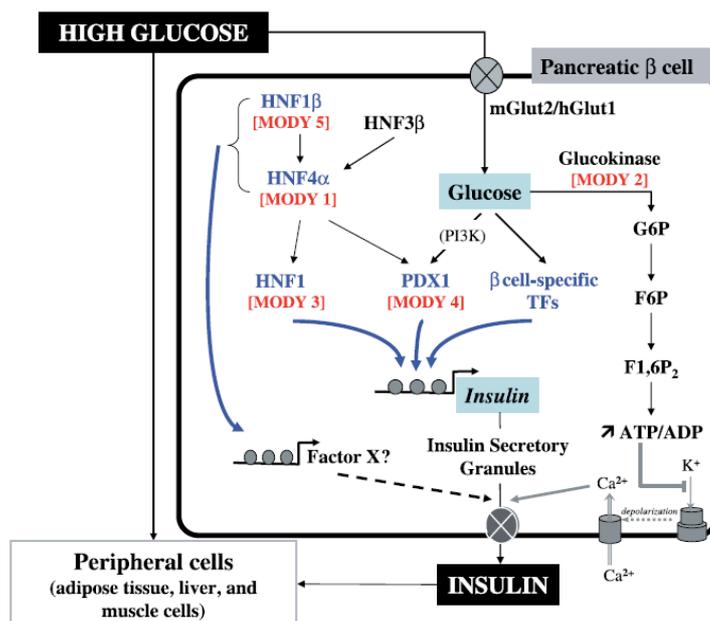
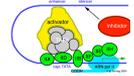


Figura 1. Regulación transcripcional del gen de la insulina en presencia de hiperglucemia en las células β del páncreas. Se resalta la participación de la familia de proteínas HNF y el papel central del factor de transcripción PDX1 en la regulación de la expresión del gen de la insulina. Las alteraciones de los genes responsables de la “diabetes de los mayores en los jóvenes” maturity onset diabetes of the young (MODY) se muestran en rojo. La secreción de insulina se dispara por un incremento del cociente ATP/ADP en el citosol. El ATP produce el cierre de los canales de K^+ regulados por ATP en la membrana plasmática, produciendo la despolarización de la membrana y abriendo los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje. El incremento de la concentración de Ca^{2+} citosólico resultante, activa la exocitosis de los gránulos que contienen la insulina. Factor X, factor hipotético que actúa en la secreción de insulina; F6P, fructosa-6-fosfato; F1,6 BP, fructosa 1,6-bifosfato; Glut, transportador de glucosa; G6P, glucosa 6-fosfato; HNF, hepatocyte nuclear factor; PDX1, pancreatic duodenum homeobox; PI3K, fosfatidilinositol 3-quinasa; TFs, factores de transcripción. [2].



4.2.- Acciones de la insulina (activación de las vía de las MAP kinasas y de la fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K)).

a) Visión general de estas rutas. La insulina produce múltiples efectos, de los cuales, en la figura 2 se muestra de forma simplificada cuatro de los más importantes:

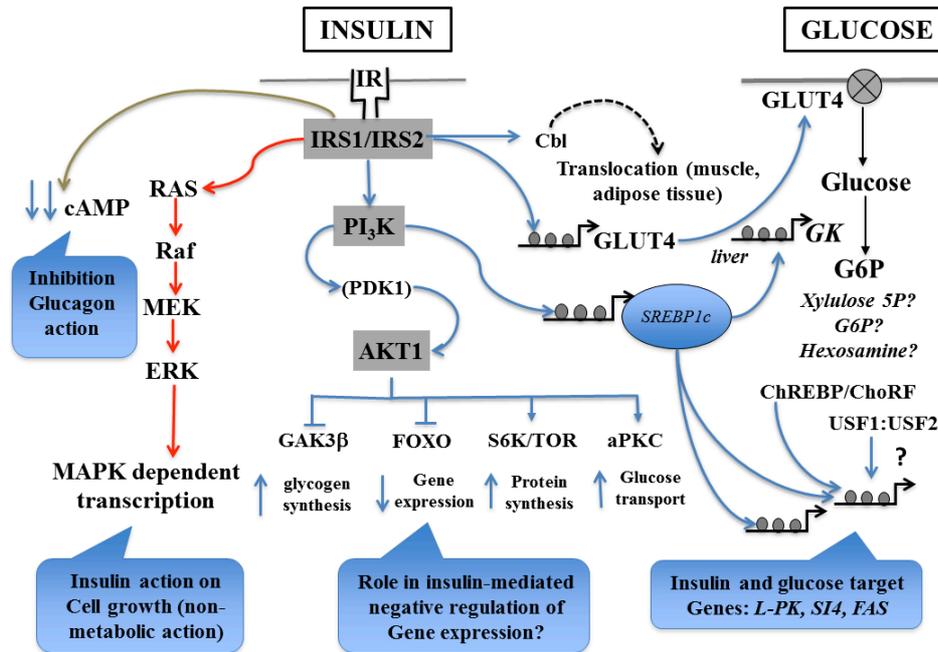
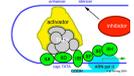


Figura 2. Acciones de la insulina y glucosa sobre la regulación de la expresión génica. La interacción de la insulina con el receptor de membrana (IR) y de la interacción del receptor con sus sustratos 1 y 2 (IRS1/IRS2) produce los siguientes efectos: (A) la drástica reducción en la concentración de cAMP intracelular contrarresta los efectos del glucagón. (B) La activación de la ruta RAS/MAPK produce la activación de genes, que están implicados en la división y proliferación celular. (C) La activación de la fosfatidilinositol 3-kinasa (PI3K) produce la mayoría de los efectos de la insulina sobre el metabolismo intermediario, vía activación of Akt (PKB) y la activación de la expresión de SREBP-1c. La activación de SREBP-1c dependiente de PI3K se considera actualmente que es el efecto más importante en la inducción de la expresión de genes causada por la insulina. Por el contrario, la activación de Akt/PKB inhibe la actividad de los factores de transcripción FOXO. Esta inhibición de FOXO resulta en represión de genes diana. Otras consecuencias de la activación de AKT también se muestran pero el mecanismo a nivel transcripcional es poco conocido. El mecanismo de la insulina sobre la expresión de Glut4 permanece desconocido (línea de puntos); mientras que, Cbl está implicado en el aumento de la translocación de Glut4 hacia la membrana en el músculo y tejido adiposo. Y (D), el intrincado papel de la glucosa e insulina como reguladores de la transcripción (a la derecha del esquema) comprende tres aspectos: (1) la translocación mediada por insulina del transportador de glucosa Glut 4 que ocurre en tejido adiposo y músculo pero no en hígado, mientras que la expresión de Glut2 en el hígado es dependiente del factor de transcripción FOXA3 (HNF3 γ); (2) el aumento de la expresión de la glucocinasa (GK) en el hígado; y (3) La activación independiente de genes diana comunes por ambos; por la insulina vía SREBP-1c, y por glucosa vía "carbohydrate response element binding protein/carbohydrate response factor" (ChREBP/ChoRF). Xilulose-5-phosphate (xilulosa 5P), glucosa-6-fosfato (G6P), y hexosamine son metabolitos de la glucosa indicados como posibles moléculas señal directamente responsables de la respuesta transcripcional de la célula a la glucosa. [2]

b) Estructura del receptor de insulina.

El receptor de insulina humano (IR) es un receptor transmembrana que es activado por la insulina, IGF-I, IGF-II; pertenece a la gran clase de receptores con actividad tirosina quinasa. A nivel molecular el receptor de insulina está codificado por un único gen INSR localizado en el cromosoma 19; el transcripto primario tiene 22 exones que por entrecortado alternativo, da lugar a dos monómeros precursores distintos (isómeros); IR-A que carece del exón 11, y el IR-B que si lo incluye (12 aminoácidos extra). La proteólisis de cualquiera de las dos isoformas dan lugar a la eliminación del péptido señal y la formación de una subunidad α y otra β unidas por un puente



disulfuro (heterodímero $\alpha\beta$). Los aminoácidos adicionales de IR-B están en el extremo carboxilo terminal de la cadena α (designada α CT). Los heterodímeros ($\alpha\beta$) procedentes de IR-A o IR-B por combinación, son capaces de formar homo o heterotetrámeros unidos por dos puentes disulfuro entre las subunidades α , constituyendo el receptor de insulina heterotetramérico transmembrana ($\alpha\beta$)₂ de \approx 320 kDa, funcional e integrado en la membrana por un solo dominio transmembrana de la subunidad β ; las subunidades α son extracelulares y las β citoplasmáticas, **figura 3. [3]**

La unión de la insulina al receptor produce cambios conformacionales en las subunidades α que activan las subunidades β que se autofosforilan en residuos de tirosina; esto permite que el receptor fosforile residuos de tirosina (actividad tirosina-quinasa) en proteínas diana del citoplasma de las células, transmitiendo la señal a su interior. A nivel del receptor la cascada de señalización se bifurca en dos vías: la vía de las quinasas activadas por mitógenos (MAP quinasas) dependientes de ras o la vía de la fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K) independiente de ras. **[4]**

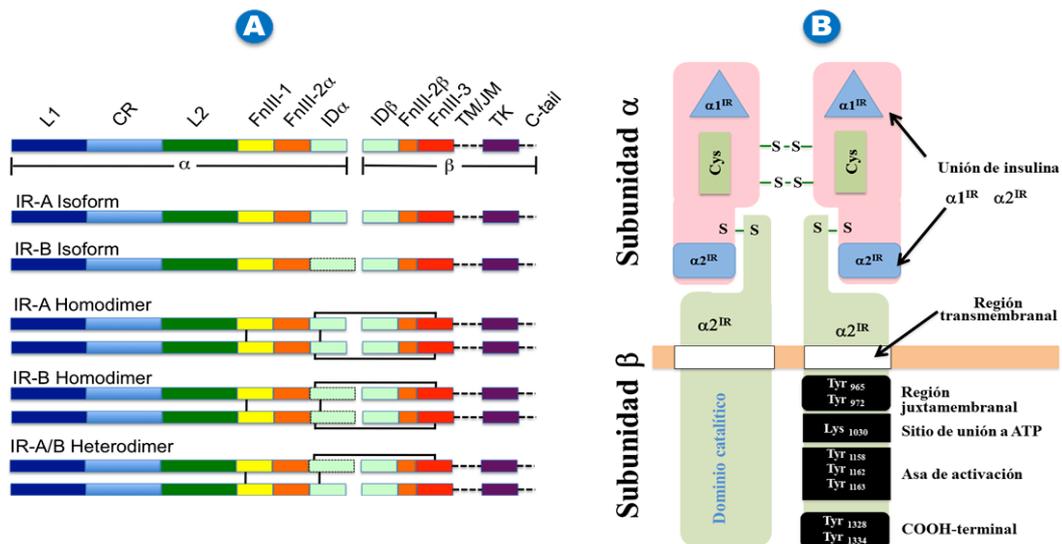
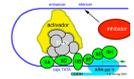


Figura 3. Estructura del receptor de insulina. En (A) se muestra una representación lineal de las cadenas α y β así como los tetrámeros resultante por diferentes combinaciones. En la parte superior se ilustran los diferentes dominios de cada una de las cadenas α y β . Cada monómero isométrico está estructuralmente organizado en 8 dominios distintos que consiste en; Un dominio de repetición rico en leucina (L1, restos 1-157), una región rica en cisteína (CR, residuos 158-310), un dominio adicional de repetición rico en leucina (L2, residuos 311-470), tres dominios de fibronectina de tipo III; FnIII - 1 (residuos 471 - 595), FnIII - 2 (residuos 596 - 808) y FnIII - 3 (residuos 809 - 906). Además, un dominio de inserto (ID, residuos 638-756) reside dentro de FnIII-2, que contiene el sitio de escisión de furina α / β , del cual la proteólisis da como resultado tanto dominios ID α como ID β . Dentro de la cadena β , corriente abajo del dominio FnIII-3 se encuentra una hélice transmembrana (TH) y una región juxtamembrana intracelular (JM), justo corriente arriba del dominio catalítico intracelular de tirosina quinasa (TK), responsable de las vías de señalización intracelulares subsiguientes. En (B) se muestran los dominios funcionales del receptor. El IR es un heterotetrámero con dos subunidades α extracelulares unidas a dos subunidades β por puentes disulfuro. Las subunidades α unidas por 2 puentes disulfuro contienen las regiones de unión a insulina α 1^{IR} y α 2^{IR} además de una región rica en cisteínas (Cys). La subunidad β contiene una parte extracelular, una transmembrana y otra intracelular. En su porción intracelular se localiza un dominio catalítico de tirosina quinasa con un sitio de unión a ATP y sitios de fosforilación en tirosinas que se localizan en las regiones juxtamembranal (Tyr₉₆₅, Tyr₉₇₂), asa de activación (Tyr₁₁₅₈, Tyr₁₁₆₂, Tyr₁₁₆₃) y carboxilo terminal (Tyr₁₃₂₈, Tyr₁₃₃₄). Tomado de [3,4] con modificaciones

c) Activación de las MAP quinasas

La unión de la insulina a su receptor de membrana activa su actividad tirosinquinasa autofosforilandose, lo cual activa la vía Ras/MAPK. Existen dos rutas posibles para transmitir la señal (**figura 11**). En general, la cascada de fosforilación comienza con la fosforilación del receptor de insulina 1 y/o 2 (IRS1, IRS2). La activación de SOS, Ras y Raf-1, activará posteriormente a MEK (activada por mitógen ERK-activating quinasa), que a su vez fosforila a MAPK. La activación de esta vía parece estar dirigida principalmente al crecimiento y



proliferación de tejidos y células sensibles a la insulina, en lugar de acciones metabólicas directas. [4]

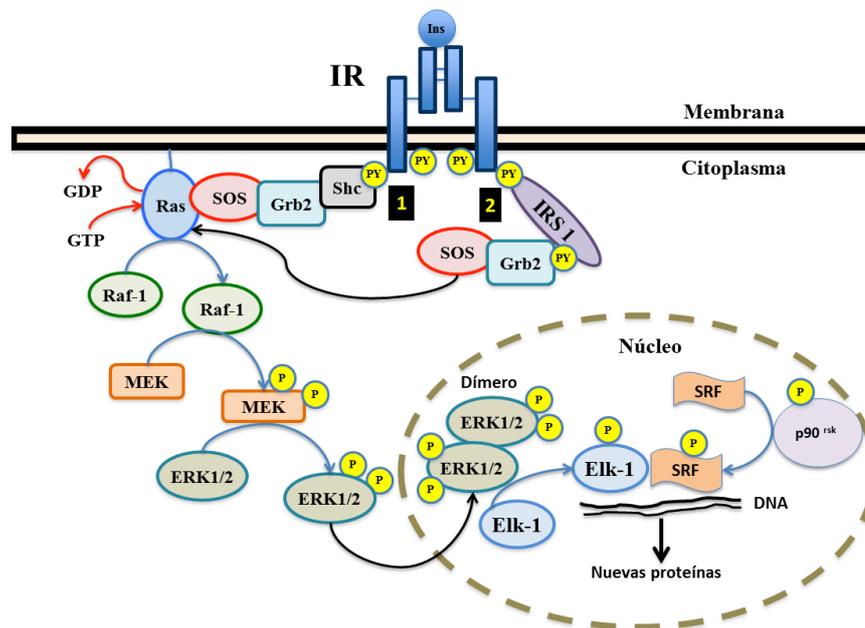


Figura 4. Activación de la vía de las MAPK por acción de la insulina. La insulina activa la vía de las MAPK a través de dos mecanismos: en el primero, la activación del IR promueve la asociación de la proteína Shc, la cual se une al complejo Grb2/SOS; SOS activa a Ras, la cual inicia el encendido de la cascada de las MAPKs. GTP-Ras une y activa a Raf-1 que subsecuentemente produce la fosforilación y activación de MEK, que fosforila a ERK1/2 que se transloca hacia el núcleo donde se dimeriza y fosforila factores de transcripción nucleares como Elk1 activándolos, finalmente Elk1 se une a otros factores de transcripción (SFR) para estimular la transcripción y traducción de un conjunto de genes necesarios para la división celular (ruta 1). Alternativamente, existe otra vía independiente de Shc que depende de la activación del IRS 1 por la que la insulina activa a las MAPKs (ruta 2). En ésta, una vez que IRS-1 es fosforilado y activo, se une al complejo Grb2/SOS; a partir de este punto la cascada de activación de proteínas es la misma que se describió para Shc (ruta 1). [4,5]

d) Activación de la vía de la fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K)

El efecto más importante de la insulina en la regulación del metabolismo es la activación de la PI3K, cuyo producto PIP3 activa a PDK1, que fosforila la serina/treonina kinasa Akt (PKB) activándola. Akt/PKB, posteriormente fosforila varias proteínas diana, como GSK3 y FOXOs, que son responsables de los efectos de la insulina sobre la regulación y la transcripción de genes, implicados en el metabolismo de la glucosa. Hay tres miembros Akt/PKB homólogos, Akt1/PKB, Akt2/PKB, y Akt3/PKB. Un esquema de esta vía se muestra en la [figura 12](#). [2]

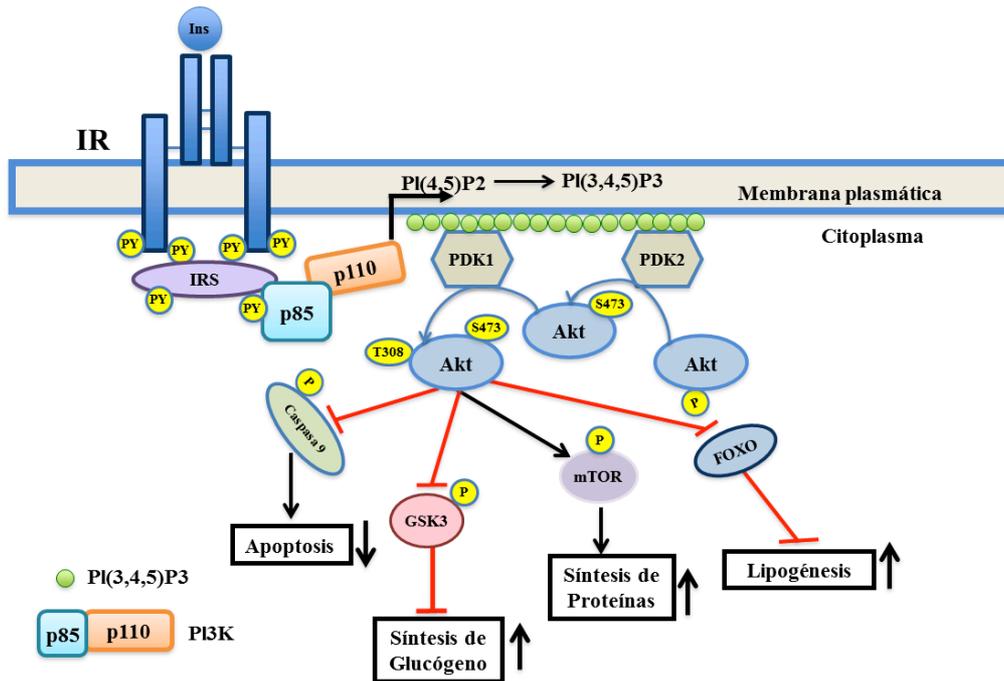
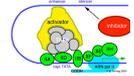
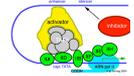


Figura 5. Activación de la vía de la PI3K/Akt por la insulina. La ruta comienza cuando el receptor IR fosforilado interactúa con los IRSs y los fosforila. Las proteínas IRS contienen un dominio amino-terminal de homología a pleckstrina (dominio PH) altamente conservado, seguido por un dominio de unión a fosfotirosinas (PTB), que en conjunto permiten el acoplamiento de IRS al IR activo. Además, los IRSs contienen entre 8 y 18 sitios potenciales de fosforilación (en función del tipo de IRS, de los cuales se conocen 4 isoformas, IRS-1 a IRS-4), que al ser fosforilados por el IR, se convierten en sitios de unión y activación de proteínas que contienen dominios SH2 (de homología al dominio 2 de la proteína Src), muchas de las cuales funcionan como proteínas adaptadoras, como es el caso de PI3K, Grb2 (proteína 2 unida al receptor del factor de crecimiento), Crk II, SHP-2 (proteína tirosina fosfatasa con homología a Src), entre muchas otras (6 citado por 8). A pesar de que existen 4 isoformas de IRSs, al parecer la que está involucrada en el transporte de glucosa a las células es la isoforma 1, en adelante se hará referencia principalmente a esta isoforma. Las PI3Ks, son heterodímeros que constan de una subunidad reguladora (p85 α , p55 α , p50 α , p85 β o p55^{PIK}) y de una subunidad catalítica (p110 α , p110 β o p110 δ). Las subunidades reguladoras son proteínas adaptadoras que contienen dos dominios SH2, los cuales permiten su unión a las proteínas IRS-1. La interacción entre ambas proteínas provoca cambios alostéricos en la conformación de la subunidad reguladora dando como resultado la activación de la subunidad catalítica de PI3K. A consecuencia de ello, p110 se localiza cerca de la membrana plasmática en donde tiene acceso a sus sustratos PI 4-P (fosfatidilinositol 4-fosfato) y PI 4,5-P2 (fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato), los cuales son fosforilados en la posición 3 del inositol, generando los productos PIP2 (PI 3,4-bisfosfato) y PIP3 (PI 3,4,5-trisfosfato), respectivamente. El PIP3 sirve como sitio de unión para kinasas de Ser como PDK1 (kinasa dependiente de fosfoinositidos-1), y Akt o proteína kinasa B (PKB). En el caso de la kinasa Akt, después de su translocación a la membrana plasmática es fosforilada en dos residuos, la Ser⁴⁷³ y la Thr³⁰⁸.

La fosforilación en la Ser⁴⁷³ ocurre primero por acción del complejo proteico mTor/Rictor, también conocido como PDK2. Esta fosforilación parece promover la interacción entre el motivo hidrofóbico del carboxilo terminal de Akt y la Kinasa PDK1 que la fosforila en la Thr308; estas dos fosforilaciones son importantes para que Akt se active completamente (8 citado por 8). Existen tres isoformas de Akt (Akt1-3), de las cuales, la isoforma 2 parece ser la que juega un papel importante en la captación de glucosa inducida por la insulina. La enzima Akt regula varios de los efectos metabólicos de la insulina a través de la fosforilación de una lista creciente de sustratos que propagan la señal de la insulina, incluyendo a la enzima glucógeno sintasa (GS), a la glucógeno sintasa kinasa 3 (GSK3), a la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), a la fosfofructokinasa 2 (PFK2), a la proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico (factor de transcripción CREB), a la molécula diana de la rapamicina en mamíferos (mTOR), a la caspasa 9 y a la proteína antiapoptótica antagonista de Bcl2 (BAD) (Figura 12). Entre todos estos destaca la fosforilación e inactivación de la enzima GSK3, una kinasa que en condiciones basales inhibe a la glucógeno sintasa; la inhibición de GSK3 por Akt favorece la activación de la glucógeno sintasa y el aumento en la síntesis de glucógeno (citado por 8). La cascada de la PI3K incluye a otras kinasas de Ser que participan en la respuesta a la insulina, incluyendo a mTOR la cual regula la síntesis proteica a través de las vías de p70S6K/S6 y 4EBP1/eIF4. Tomado de [4] con modificaciones.



e) Translocación del transportador de glucosa Glut 4

En células adiposas y musculares la insulina promueve la translocación del transportador de glucosa GLUT4 desde compartimentos intracelulares a la membrana plasmática. Existen varios mecanismos para explicar el proceso: una vía que depende de la activación de PI3K y de Akt; otra que implica la fosforilación de la tirosina del protooncogén Cbl de manera PI3K-independiente; y una tercera que implica la activación de las PKC atípicas (figura 6). Probablemente las tres vías participan en la translocación del transportador Glut-4 a la membrana celular. El efecto fisiológico de la translocación de Glut4 a la membrana es aumentar la captación de glucosa en el tejido adiposo y el músculo, activación de la glucógeno sintasa y; por tanto, la síntesis de glucógeno, y la activación de la p70S6kinasa que estimulará la síntesis de proteínas. En las figuras 14 y 15 se presentan las vías de traducción para estos dos últimos procesos respectivamente. [2]

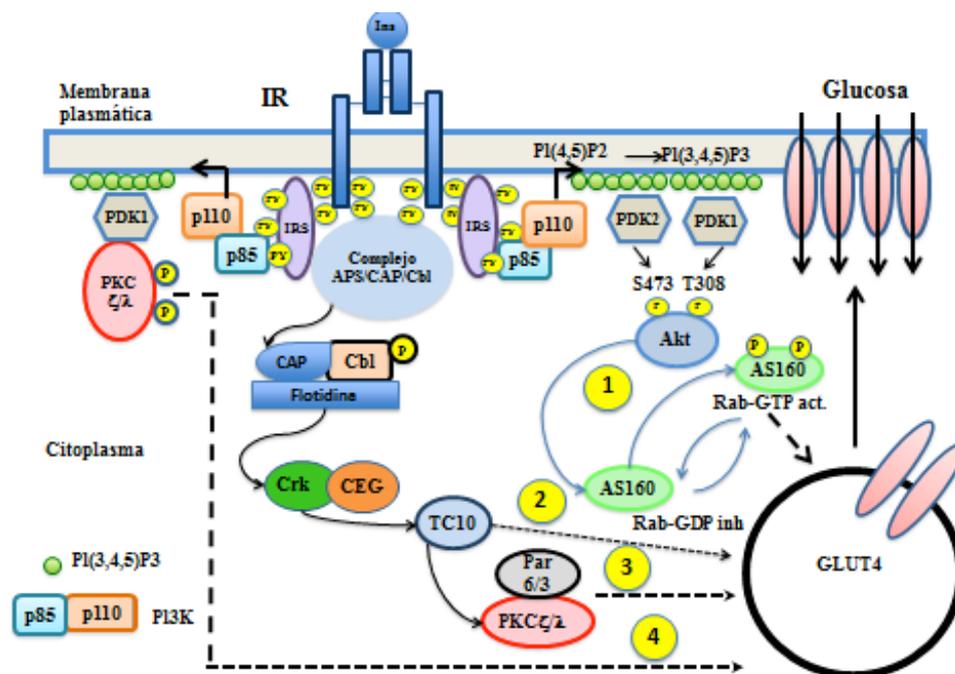
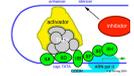


Figura 6. Translocación del transportador de glucosa Glut 4 dependiente de insulina. En células adiposas y musculares la insulina induce la translocación del transportador de glucosa GLUT4 desde compartimentos intracelulares a la membrana plasmática, por una vía que depende de la activación de PI3K y de Akt. Resultados recientes indican que el tráfico de GLUT4 a la membrana plasmática depende de varios mecanismos entre los que se encuentra la participación de la AS160 (la cual contiene un dominio Rab/GAP). AS160 (sustrato de Akt de 160 KDa) es una proteína que en su estado no fosforilado es activa y regula negativamente la actividad de las proteínas G pequeñas Rab, las cuales participan en el tráfico vesicular de GLUT4, inhibiendo la exocitosis basal del transportador. Cuando AS160 es fosforilada por Akt, AS160 se inhibe, por lo que se incrementa el tráfico-dependiente de Rab del transportador GLUT4 a la membrana plasmática (mecanismo 1). Más recientemente se ha descrito en adipocitos una vía de transporte de glucosa independiente de PI3K, e involucra a la proteína Cbl y a las proteínas adaptadoras APS y CAP. La formación de un complejo proteico entre APS/CAP/Cbl, permite la fosforilación de ésta última por el IR. El complejo CAP/Cbl fosforilado se disocia del IR y a través de CAP interactúa con la flotilina en microdominios de la membrana plasmática conocidos como balsas lipídicas (lipid rafts), en donde Cbl recluta al complejo proteico CrkII-C3G. C3G activa a la proteína TC10, proteína G pequeña, miembro de la familia de Rho, la cual al parecer lleva a la translocación de GLUT4 (mecanismo 2). Por otra parte, la activación de las PKCs atípicas λ y ζ inducida por la insulina también las involucra en favorecer el transporte de glucosa inducido por la insulina. Se ha descrito que la activación de PKC-λ/ζ podría darse corriente abajo de PI3K y de TC10; es decir, podrían ser proteínas en donde convergen ambas vías de señalización involucradas en el transporte de glucosa (mecanismo 3). Por un lado, se ha sugerido que ambas PKCs pueden asociarse con PDK1 cuando ésta se ancla al PIP3, induciendo la fosforilación en los residuos de Thr402/Thr410 en el asa de activación de PKC (mecanismo 4). Por otra parte, cuando TC10 se activa interactúa con el complejo PKC atípica/Par6/Par3, lo que induce el reclutamiento de ambas PKCs en la membrana plasmática donde son activadas). Par3/Par6 son dos proteínas de andamiaje recientemente descritas como proteínas que interactúan con PKC-λ/ζ, y que en complejo



participan en mediar varias de las funciones celulares de la PKC. Finalmente, podemos decir que independientemente de la vía que lleve a la activación de PKC- λ/ζ , ambas contribuyen de manera significativa a la translocación de GLUT4 inducida por la insulina. [4].

f) Regulación del metabolismo del glucógeno

En la figura 7 se muestra un esquema del proceso de la activación de la síntesis e inhibición de la degradación del glucógeno

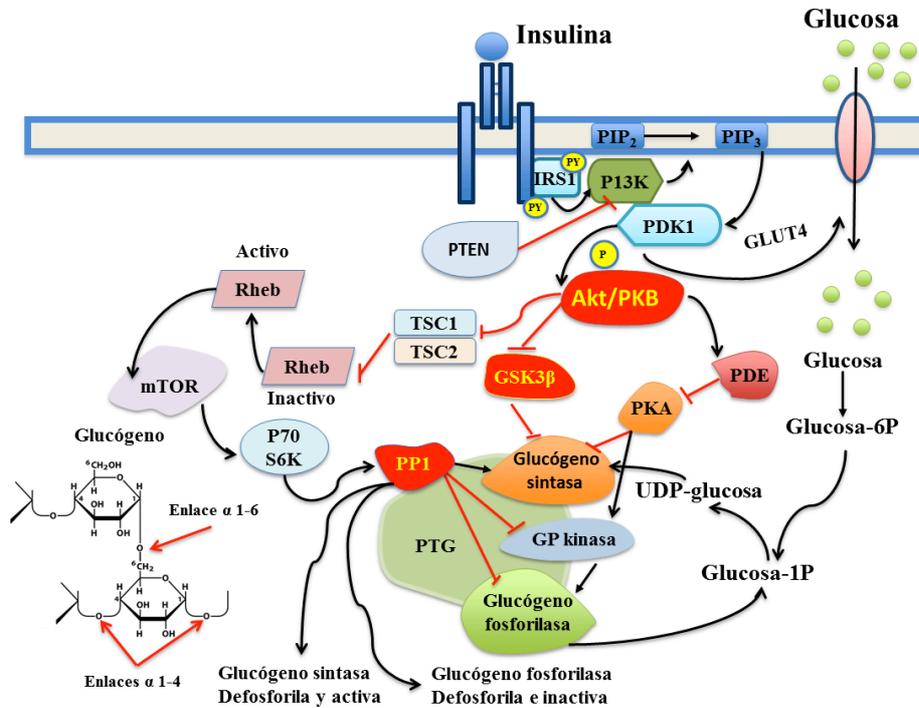


Figura 7. Regulación del metabolismo del glucógeno. El esquema muestra que la interacción del receptor de insulina IRS1 desencadena la activación de una cascada de kinasas que finaliza con la activación de la glucógeno sintasa e inhibición de la glucógeno fosforilasa. La insulina activa la vía glicolítica e inhibe la gluconeogénesis actuando sobre enzimas claves en ambas rutas. Así mismo, la insulina activa la síntesis de glucógeno (activando PP1), mientras simultáneamente, inhibe su degradación actuando concertadamente con otros efectores (disminuye la concentración de cAMP e inhibe la PKA). Se muestra la regulación de las actividades más importantes y como estas pueden ejercer rápidamente su función, debido a su estrecha asociación con la proteína señalizadora de glucógeno (PTG). Realmente PTG es una subunidad regulatoria del heterotetramero PP1. Hay un PTG para el músculo (PPP1R3A) y otro para el hígado (PPP1R3B). En el esquema se muestra también la incorporación del transportador GLUT4 a la membrana.

PI3K: fosfatidilinositol-3-kinasa; PIP2:fosfatidilinositol-4-5-bisfosfato; PIP3: fosfatidilinositol-3,4-5-trisfosfato; PDK1: proteinkinasa dependiente de PIP3; TSC1 y TSC2: tuberous sclerosis tumor suppressors 1(hamartin) y 2 (tuberin); Rheb: homólogo de RAS abundante en cerebro; mTOR: diana de la rapamicina; Akt/ PKB: proteinkinasa Akt/B2; GSK3 Glucógeno sintasa kinasa 3; S6K: 70kDa proteína ribosomal S6kinasa (p70S6k); GPkinasa: glucógeno fosforilasa kinasa; PP1: proteína fosfatasa ; PDE:fosfodiesterasa de cAMP; PKA: proteinkinasa A. La activación de mTOR también produce efectos sobre la traducción. Las flechas son efectos positivos y las líneas T efectos inhibitor. Tomado de [6] con modificaciones.

g) Regulación de la síntesis de proteínas

En la figura 8 se presenta un esquema del mecanismo de regulación de la síntesis de proteínas por la insulina.

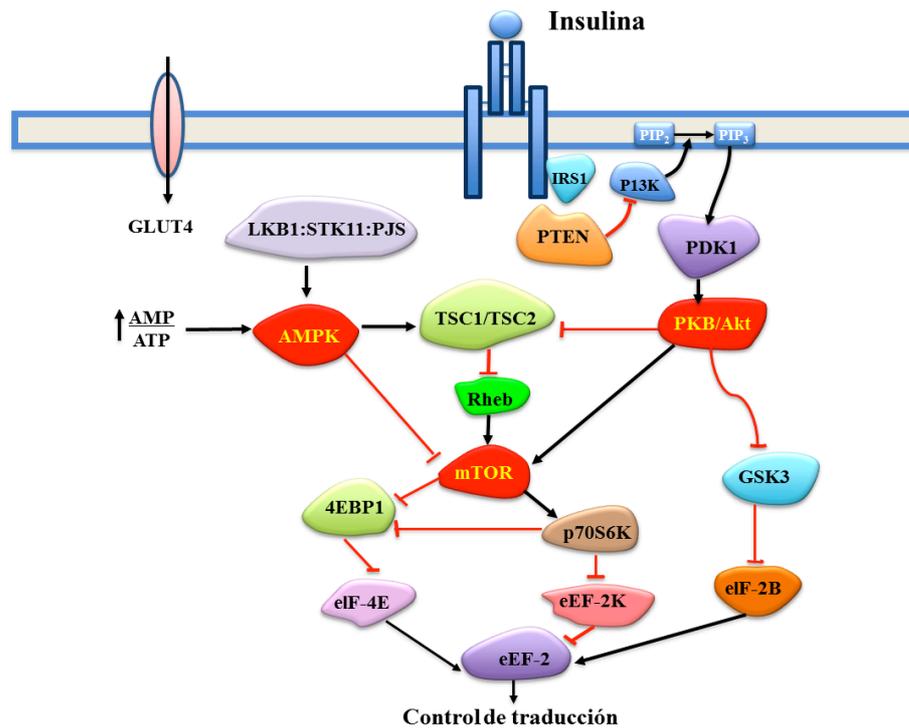
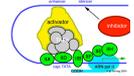
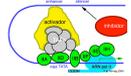


Figura 8. El complejo TSC1/TSC2 actúa potenciando la actividad GTPásica de Rheb. Cuando la Akt fosforila a TSC2 en los residuos (S939 y T1462) la efectividad del complejo se ve afectada. Cuanto más rápida es la actividad GTPásica de Rheb, más rápida es la reducción de la activación de mTOR por Rheb. Cuando el complejo es fosforilado por Akt es menos efectivo en la potenciación de la actividad GTPásica de Rheb; y por tanto, la activación de mTOR por Rheb durará más tiempo en respuesta a la insulina. AMPK fosforila a TSC2 en dos sitios distintos de Akt, que son la T1271 y S1387. La fosforilación de estos residuos en TSC2 incrementa la actividad GTPásica de Rheb, lo que produce una inhibición de mTOR; y por tanto, una disminución de la síntesis de proteínas.

La activación de mTOR produce la fosforilación de p70S6K, la cual fosforila la eEF2quinasa. Esta quinasa fosforila al factor de traducción eEF2 inhibiendo el paso de elongación en la síntesis de proteínas. Cuando la eEF2quinasa es fosforilada por p70S6K es menos activa fosforilando el factor de elongación eEF2; y por tanto, más activo en respuesta a la insulina. Además por otro lado, la insulina produce la rápida defosforilación de eEF2 por la activación de la proteinfosfatasa 2A. En resumen ambos procesos conducen a la activación de la síntesis de proteínas. Otros efectos que también intervienen en la estimulación de la síntesis de proteínas son por un lado la inhibición de la GSK3 por Akt (lo que aumenta la actividad GTPásica de eIF2B); y por otro, la inhibición de la proteína 4EBP1 por mTOR. STK11-LKB-PJS: serina-treonina quinasa 11; IRS1: sustrato receptor de insulina 1; PI3K: fosfatidilinositol-3-quinasa; PIP2: fosfatidilinositol-4-5-bisfosfato; PIP3: fosfatidilinositol-3,4-5-trifosfato; PDK1: proteinkinasa dependiente de PIP3; PTEN: fosfatasa; TSC1 y TSC2: tuberous sclerosis tumor suppressors 1 (hamartin) y 2 (tuberin); Rheb: homólogo de RAS abundante en cerebro; mTOR: diana de la rapamicina en mamíferos; Akt/ PKB: proteinkinasa Akt/B 2; GSK3: Glucógeno sintasa quinasa 3; 4EBP1: proteína de unión a eIF-4E; p70S6k: proteína ribosomal quinasa S6 (S6K). Las flechas son efectos positivos y las líneas T efectos inhibitorios. [7]

h) La insulina regula negativamente la expresión génica

La insulina también regula negativamente la transcripción, en particular, la de los genes implicados en la producción de glucosa hepática, tales como los que codifican a IRS2, fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK), proteína de unión al factor de crecimiento de insulina-1 (IGFBP-1), y glucosa-6-fosfatasa (G6Pasa). Un elemento de secuencia particular, contenida en una unidad más amplia de respuesta a la insulina, se ha identificado en los promotores de estos genes como factor responsable de la regulación negativa de la insulina. Varias factores de transcripción, tales como miembros de la familia C / EBP, HNF-3 / FOXA y FOXO, pueden unirse a este elemento. De particular interés son los FOXOs, representados por tres miembros,



FOXO1, FOXO3a y FOXO4, que son fosforilados por Akt-1 por activación de la vía PI3K mediada por insulina. Los FOXOs fosforilados tienen una alta afinidad por la proteína 14-3-3, que trasloca FOXOs desde el núcleo al citosol. Además, la insulina facilita la ubiquitinación y posterior degradación de los FOXOs fosforilados. Así, en un modelo mecanicista, la insulina mediaría la represión por la eliminación del núcleo y la degradación acelerada del regulador transcripcional positivo FOXO.

Mientras que la correlación entre los niveles de actividad de FOXO, HNF3, y C/EBP y la represión génica por insulina en mamíferos no está clara, sus complejas funciones entrelazadas son ilustradas en la regulación de la expresión del factor PDX1 mediada por insulina. En las células pancreáticas β , FOXO1 en el núcleo actúa como un represor de la actividad positiva de HNF3 β en el promotor PDX1, mientras que la insulina disminuye esta represión excluyendo FOXO1 del núcleo *figura 16*. [2]

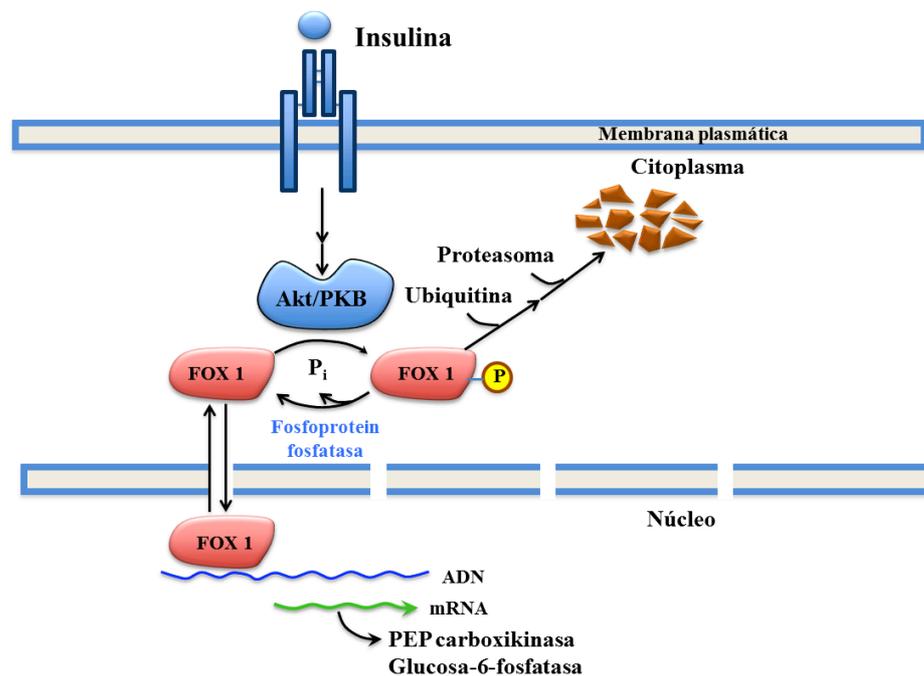
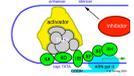


Figura 9. Mecanismo de regulación génica por el factor de transcripción FOXO1. FOXO1 es fosforilado en el citosol por PKB, y el factor de transcripción fosforilado se etiqueta mediante la unión de ubiquitina para la degradación por los proteosomas. FOXO1 que permanece sin fosforilar o que es desfosforilado puede entrar en el núcleo, donde se une a un elemento de respuesta, y desencadena la transcripción de los genes asociados. La insulina tiene, por tanto, el efecto de inactivar la expresión de estos genes, que incluyen PEP carboxikinasa y la glucosa-6-fosfatasa. [5].

i) La insulina regula a SREBP 1-c y la expresión de genes lipogénicos

La insulina controla la expresión de más de 150 genes en diversos tejidos. Los mecanismos de regulación transcripcional son extremadamente diversos, como puede deducirse por la variedad de secuencias existentes en los promotores de estos genes que son responsables de la acción de la insulina. Estas secuencias de respuesta a la insulina o elementos de respuesta a la insulina (IRS / IRE) se han clasificado en siete grupos.

Entre los factores que son modificados por la insulina y se unen a estos IRE, se ha identificado a la proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides 1c (SREBP-1c) como el factor más importante. Los SREBPs son una familia de factores de transcripción que se expresan con una tasa elevada en el hígado y hay tres isoformas, SREBP-1a, SREBP-1c, y SREBP-2. Sorprendentemente, la expresión de SREBP-1c en el hígado es estimulada por la insulina



independientemente de los niveles de glucosa. La regulación se produce a nivel transcripcional y el análisis del promotor SREBP-1c reveló una interacción compleja de factores de transcripción. Se considera que para mantener los niveles basales de SREBP-1c, es suficiente el mismo (autoregulación) y el factor Y. Sin embargo, durante el aumento de expresión mediado por insulina la expresión de, el LXR un receptor nuclear, activado por derivados oxidados de colesterol juega un papel crucial. El mecanismo propuesto por el cual la insulina aumenta la actividad de LXR implicaría la producción de un ligando para LXR dependiente de la actividad de insulina. Además de aumentar la expresión de SREBP-1c, la insulina también activa la proteólisis de SREBP-1c de manera dependiente de PI3K para producir la forma madura activa del factor de transcripción.

SREBP-1c actúa como un intermediario de la insulina, con respecto a la regulación de la actividad transcripcional de genes glicolíticos y lipogénicos en el hígado. Como piruvato quinasa (L-PK), spot 14 (S14) y la ácido graso sintasa (FAS). La expresión de la glucocinasa (GK) en el hígado también está regulada por la insulina, independientemente de los niveles de glucosa extracelular. Esta regulación requiere una vía PI3K intacta aunque puede ocurrir también a través de SREBP-1c por otras vías. [2]

Las figuras 10 y 11 muestran las interacciones de SREBP-1c con otros factores de transcripción en los promotores de genes diana y los diferentes estímulos que activan a los factores de transcripción lipogénicos

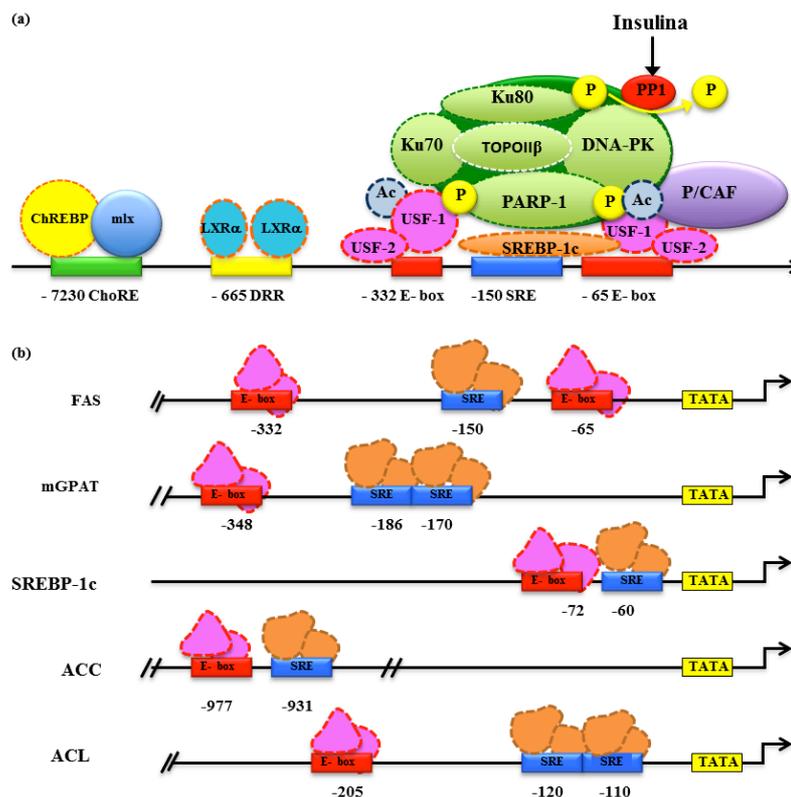
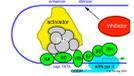


Figura 10. En (a) se muestra el promotor del gen de la ácido graso sintasa FAS y los elementos y factores que actúan en cis y trans implicados en la regulación de la transcripción inducida por insulina. Los números indican las posiciones de cada elemento relativo al sitio de inicio de la transcripción. SRE, elemento de respuesta a esteroides; SREBP-1c, proteína que se fija al elemento de respuesta a esteroides 1c; TATA, caja TATA; USF 1 y 2, factores estimulantes corriente arriba 1 y 2; LXR, receptor de hígado X; ChoRE, elemento de respuesta carbohidratos; ChREBP, proteína de unión a ChoRE. En la activación de la expresión de los genes lipogénicos parecen ser críticos tres factores de transcripción SREBP-1c, USF 1/2 y LXR y el mecanismo de activación de la expresión podría ser el siguiente: tras la ingesta la insulina activa la vía de PI3K/Akt que termina activando P/CAF, que defosforila a DNA-PK activándola. Esta kinasa fosforila USF-1, que se fija a la caja E y recluta a SREBP-1c y otras proteínas como P/CAF que acetila a USF-1, activando el promotor. Durante el ayuno, el descenso de insulina y por tanto el cese de la



actividad PP1 por un lado; y la desacetilación de USF 1 por HDAC9 por otro revierten el proceso.

(b) Esquema de la caja E y SRE presentes en las regiones proximales de promotores de varios genes que codifican enzimas en la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos. ACL, ATP-citrato liasa; ACC, acetil-CoA carboxilasa; FAS, ácido graso sintasa; mGPAT, mitochondrial glicerol-3-fosfato aciltransferasa; y SREBP-1c, proteína que se fija al elemento de respuesta a esteroides 1c. [8].

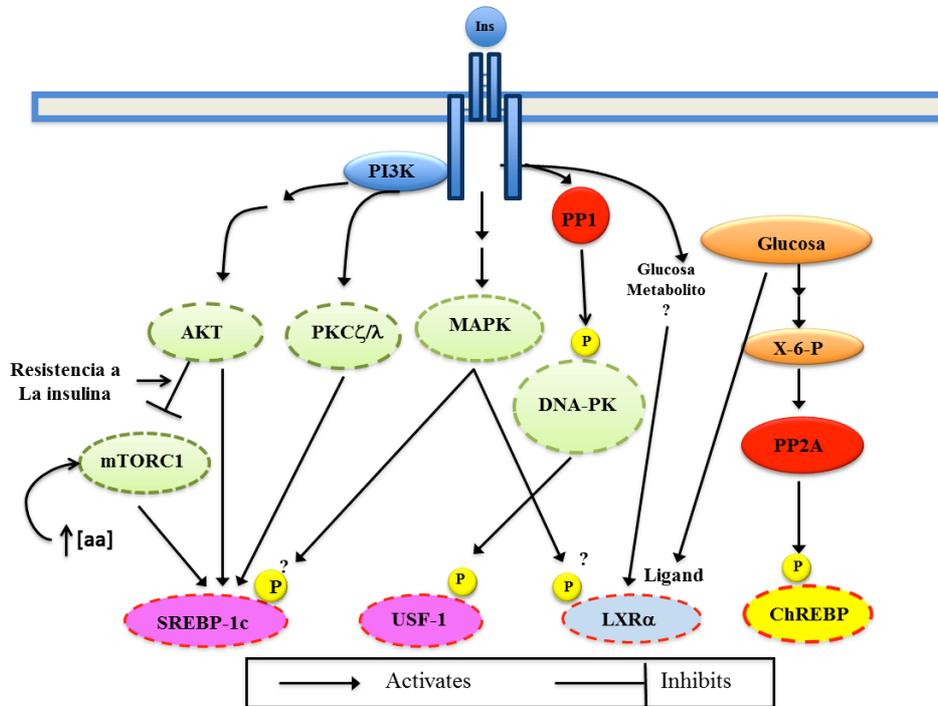


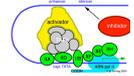
Figura 11. En el esquema se muestran los diferentes estímulos que producen la activación de los factores de transcripción lipogénicos, SREBP-1c, USF y LXRα, así como ChREBP durante la ingesta. [8].

4.3.- Glucosa-insulina regulan la transcripción de genes involucrados en el metabolismo de la glucosa

La glucosa, independientemente de la insulina, puede regular la expresión de genes implicados en el metabolismo de carbohidratos. La glucosa al entrar en las células, es fosforilada a G6P. Los destinos principales de la glucosa 6P es la glucogenogénesis, la vía de las pentosas o la glicólisis. Además, se ha postulado, que la glucosa 6P es la señal necesaria para iniciar la regulación de la transcripción. Alternativamente, otros metabolitos tales como el xilitol producido por la vía del fosfato de pentosa o intermediarios de la ruta de biosíntesis de hexosamina también podrían actuar en la regulación de tejidos específicos. El estudio de tres genes ha sido de gran ayuda para ver el papel de la glucosa en la regulación de la transcripción; estos genes codifican la L-PK, (vía glucolítica), S14 (asociado a la lipogénesis) y la FAS, (la lipogénesis). El análisis del promotor de estos genes muestra que tienen elementos de respuesta a hidratos de carbono (ChoRE) o elementos de respuesta a la glucosa (GLRE) que son similares. La característica principal común es la presencia de al menos una caja E. El GIRE/ChoRE de L-PK y S14 tienen dos cajas E en tándem; además de un sitio de unión, para el factor auxiliar HNF4 en el caso de L-PK.

La enzima FAS también posee una compleja serie de elementos regulatorios en el promotor, cuya estructura y organización se muestra en la figura 10 a.

Un factor nuevo (inicialmente WBSR14), presenta una actividad GIRE/ChoRE que podría explicar la capacidad de respuesta a la glucosa. Debido a que interacciona con ChoRE de la L-PK, este factor se ha renombrado como proteína de unión al elemento de respuesta a



carbohidratos (ChREBP). Se expresa principalmente en hígado, riñón y tejido adiposo.

Evidencias experimentales han demostrado el papel directo de ChREBP en la activación de la transcripción de los genes de L-PK, ACC, FAS inducida por glucosa, coordinando la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos in vivo en respuesta a niveles de glucosa elevados.

En condiciones basales, ChREBP es fosforilada por la proteína quinasa A (PKA) y permanece citosólica. La activación por la glucosa de ChREBP se hace en dos pasos, en primer lugar, una desfosforilación en la serina-196 desencadena su translocación al núcleo, seguida de una segunda desfosforilación en la serina-568 y treonina-666, que le permite unirse al DNA. Esta activación requiere la expresión de GK, y el metabolito xilulosa 5-fosfato (vía de las pentosas fosfato) que es el enlace funcional entre la glucosa alta y la activación ChREBP.

La xilulosa 5-fosfato activa la proteína fosfatasa 2, desencadenando la desfosforilación de ChREBP tanto en el citosol como en el núcleo. Por último, la actividad transcripcional de ChREBP requiere su heterodimerización con el factor Max-like protein X (Mlx), lo que permitiría al complejo dirigirse específicamente a los sitios de unión de E-box en los promotores de genes que responden a la glucosa [figura12](#).

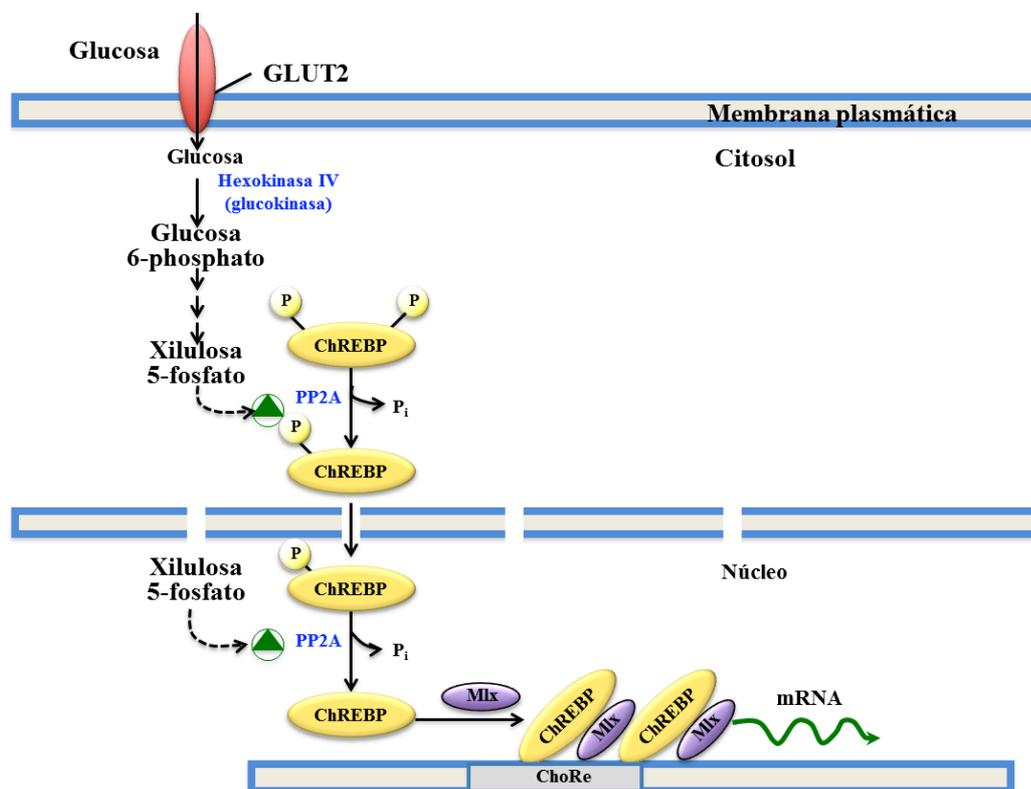
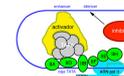


Figura 12. Mecanismo de regulación génica por el factor de transcripción ChREBP. Cuando ChREBP en el citosol de un hepatocito se fosforila en un residuo Ser y otro Thr, no puede entrar en el núcleo. La desfosforilación de P-Ser por la proteína fosfatasa PP2A permite que ChREBP entre en el núcleo, donde una segunda desfosforilación, de P-Thr, activa ChREBP de manera que se pueda asociar con su proteína afín, Mlx. ChREBP-Mlx se une ahora al elemento de respuesta de carbohidratos (ChoRE) en el promotor y estimula la transcripción. El PP2A es activado alostéricamente por la xilulosa 5-fosfato, un intermediario de la ruta de las pentosas fosfato. Tomado de [5] con modificaciones.



Regulación transcripcional del metabolismo por hipoglucemia

4.4.- Regulación del metabolismo en el ayuno: acciones del glucagón.

Durante el ayuno, o incluso entre comidas, el hígado y en menor medida el riñón producen la glucosa necesaria para el suministro del cerebro. El control hormonal de esta adaptación está asociado al aumento de glucocorticoides, disminución de los niveles de insulina y, lo más importante, a la secreción de glucagón por el páncreas. El glucagón se obtiene a partir de un precursor en las células α del páncreas y se secreta en respuesta a la hipoglucemia. En el hígado, el glucagón interactúa con receptores de membrana acoplados a proteínas G triméricas, que activan la adenilato ciclasa produciendo un aumento en el cAMP intracelular; el cual a su vez activa la PKA [figura 13](#).

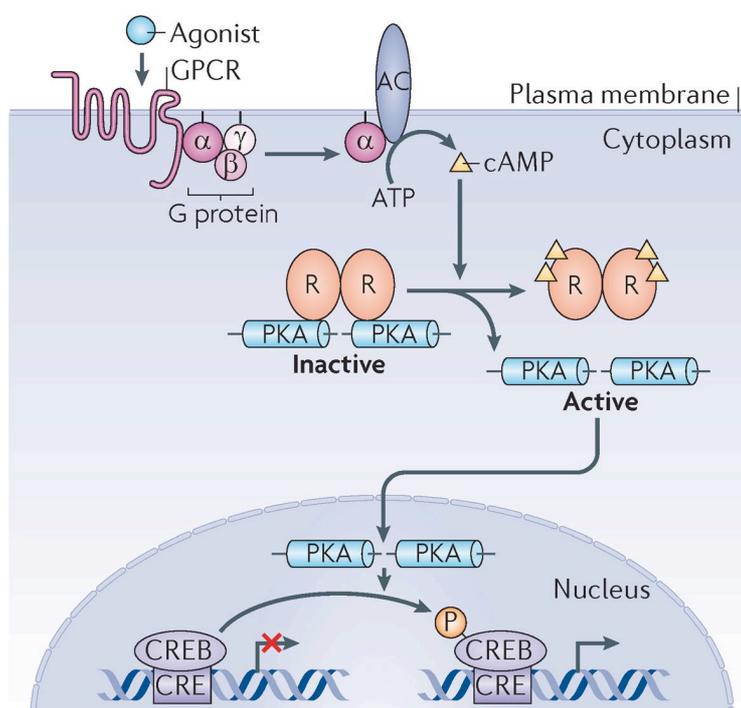
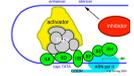


Figura 13. El cAMP estimula la fosforilación de CREB. La unión del ligandos a receptores acoplados a proteínas G estimuladoras (GPCR), y constituidas por tres subunidades α , β y γ , conduce a la activación de adenilato ciclasa (AC), que cataliza la síntesis de AMP cíclico. Los aumentos en el AMPc celular estimulan la señalización de la proteína quinasa A (PKA). cAMP se une a las subunidades reguladoras (R) de PKA, produciendo su disociación de las subunidades catalíticas. Las subunidades catalíticas liberadas entran en el núcleo por difusión pasiva y fosforilan la proteína CREB en Ser133 que se une a CRE (elemento de respuesta al cAMP). CREB fosforilado activa la expresión de genes diana cuyos promotores contienen CRE. [9].

Con este mecanismo, el glucagón contrarresta algunos de los efectos de la glucosa-insulina. Por ejemplo, el aumento de los niveles de cAMP en los hepatocitos primarios disminuye la expresión de SREBP-1c mediante un mecanismo que requiere la síntesis de proteínas de novo. Además, la fosforilación de ChREBP dependiente de PKA lo secuestra en el citosol e inhibe su actividad lipogénica. La modulación de la concentración de cAMP es el mecanismo principal por el cual el hígado ajusta la glucogenólisis y la gluconeogénesis, para producir y liberar glucosa a la sangre. Varios factores de transcripción como la proteína de unión al elemento de respuesta de cAMP (CREB), el modulador de elementos de respuesta de cAMP (CREM), y el factor de transcripción de activación-1 (ATF-1) son activados positivamente por fosforilación. La fosforilación de CREB por PKA permite el reclutamiento del co-activador que se une a CREB

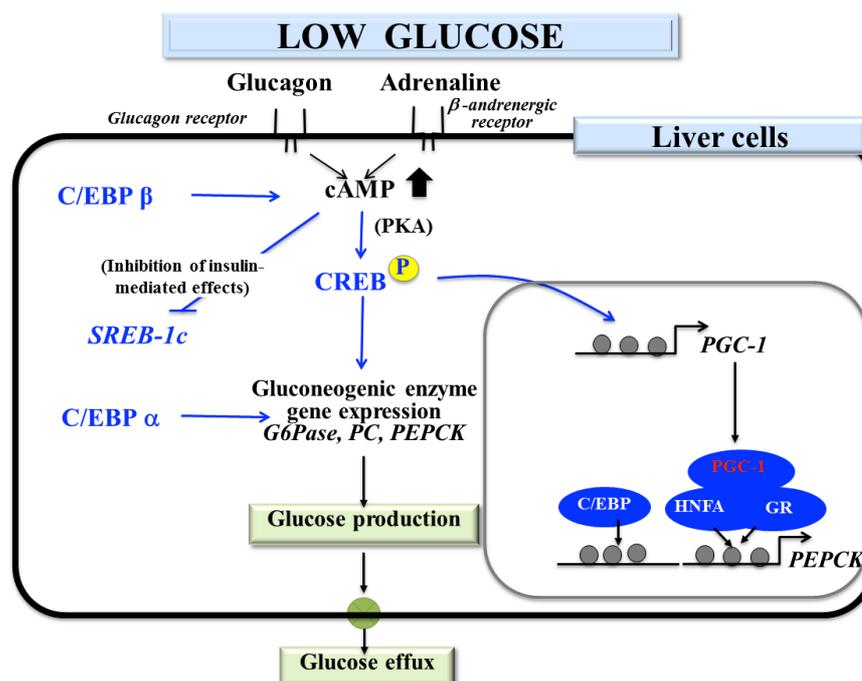


CBP/p300, facilitando la transcripción por los complejos unidos al ADN.

CREB es un factor de transcripción ubicuo que induce la expresión de genes clave implicados en la gluconeogénesis, tales como los que codifican la PEPCK, G6Pasa y piruvato carboxilasa. Se han identificado sitios de unión para CREB en los promotores de PEPCK y G6Pasa, pero no en el de la piruvato carboxilasa. Sin embargo, son necesarios otros mecanismos para explicar la cantidad de genes que responden, a la activación transcripcional y la especificidad de la respuesta al cAMP en los tejidos gluconeogénicos; hígado, riñón e intestino delgado. Por ejemplo, el gen para el coactivador PGC1 α es fuertemente activado por CREB en el hígado. Y que PGC1 α aumentaba la actividad transcripcional mediada por HNF4 α y el receptor de glucocorticoides unidos al promotor de PEPCK. Este efecto indirecto de cAMP vía PGC1 α no se ha observado para la piruvato carboxilasa. HNF4 α junto con C/EBP α y C/EBP β también se unen constitutivamente al promotor G6Pasa. En este escenario podemos asumir que, el glucagón induce la transcripción de sus genes diana a través de la fijación de CREB a su cognato y el posterior reclutamiento de CBP (proteína de unión a CREBP) desfosforilado. CBP es de vital importancia para el cese de la gluconeogénesis, ya que la fosforilación es dependiente de la insulina. La fosforilación CBP impide su reclutamiento por CREB, inhibiendo así la expresión de los genes diana de CREB, como se ha demostrado para el promotor de PGC1 α .

La importancia de C/EBP α en el control transcripcional de la gluconeogénesis se ha visto estudiando ratones knockout, en estos se aprecia un descenso en la expresión de la glucógeno sintasa, G6Pasa PEPCK y tirosina amino transferasa. La delección específica de tejido de C/EBP α en el hígado adulto confirma que estos tres últimos genes están bajo el control de C / EBP α en el adulto. Estudios con ratones knockout para C/EBP β demuestran que este factor está correlacionado con los niveles de cAMP [figuras 14 y 15](#).

Por último, en el hígado, la activación de la AMPK conduce a una inhibición de las vías lipogénicas afectando la expresión de FAS, S14 y L-PK dependientes de la glucosa-insulina. Por el contrario, los knock-out de la subunidad α 2 (s. catalítica) de AMPK desencadena una alteración metabólica con niveles altos de glucosa y baja insulina, que parece ser debida a una disfunción del sistema nervioso autónomo. Sin embargo, una forma de AMPK se expresa en el núcleo celular y podría actuar directamente sobre la regulación transcripcional mediante la inhibición de la unión de ChREBP al ADN por fosforilación. En la [figura 16](#) se ilustra un posible mecanismo para el apagado de la gluconeogénesis y encendido de la ruta lipogénica.



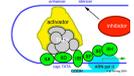


Figura 14. Efectos de los niveles bajos de glucosa sobre la transcripción en las células hepáticas. La mayoría de los efectos en respuesta a la concentración baja de glucosa son debidos a la falta de insulina, asociada a concentraciones elevadas de glucagón y, hasta cierto punto, por la estimulación de los receptores β -adrenérgicos. El posterior aumento en los niveles de cAMP desencadena la fosforilación del factor de transcripción CREB (proteína de unión al elemento de respuesta al cAMP, que es responsable del aumento de expresión de los genes de las enzimas gluconeogénicas. Además, C / EBP β participa en el aumento de concentración de cAMP; mientras que C / EBP α de forma independiente, activa genes implicados en la gluconeogénesis. El recuadro en el inserto, muestra la interacción combinada de factores de transcripción y el coactivador PGC-1 involucrados en la regulación transcripcional del gen de la fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK), que juega un papel crucial en la gluconeogénesis. [2]

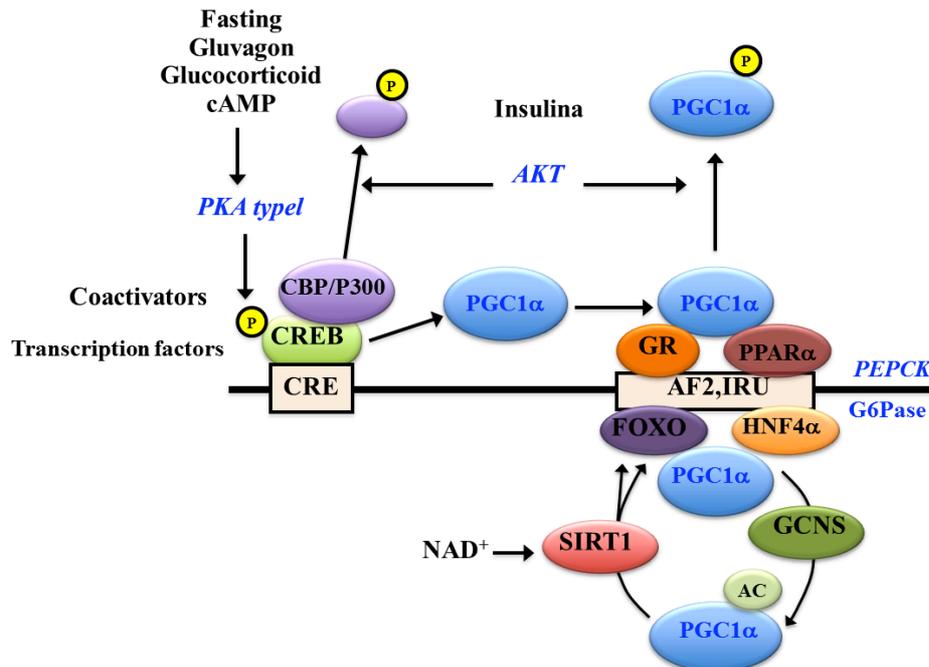


Figura 15. Regulación de la actividad de PGC1 α . El coactivador PGC1 α es el regulador clave de la gluconeogénesis. Glucagon / PKA fosforila el factor de transcripción de CREB que recluta a CBP que induce la expresión del coactivador PGC1 α . PGC1 α coactiva y forma complejos con otros factores de transcripción de la gluconeogénesis incluyendo FOXO1, GR, HNF4 α (así como PPAR α) para activar los promotores de gluconeogénesis. PEPCK y G6Pase, que son los genes de la gluconeogénesis (el mismo nombre de la enzima relacionada). AF2 es el promotor PEPCK e IRU es el promotor G6Pase.

La función de PGC1 α es controlada por modificaciones covalentes cíclicas reversibles como fosforilación/desfosforilación y acetilación/desacetilación. La ruta insulina / Akt inhibe PGC1 α por fosforilación y degradación en el hígado. SIRT1 (sirtuina-1 desacetilasa dependiente de NAD) favorece la actividad de PGC1 α por desacetilación. SIRT1 estimula la gluconeogénesis mediante la coactivación de FOXO1 y HNF4 α . GCN5 (miembro de la superfamilia de la N-acetiltransferasa) acetila e inhibe PGC1 α y la gluconeogénesis. [10].

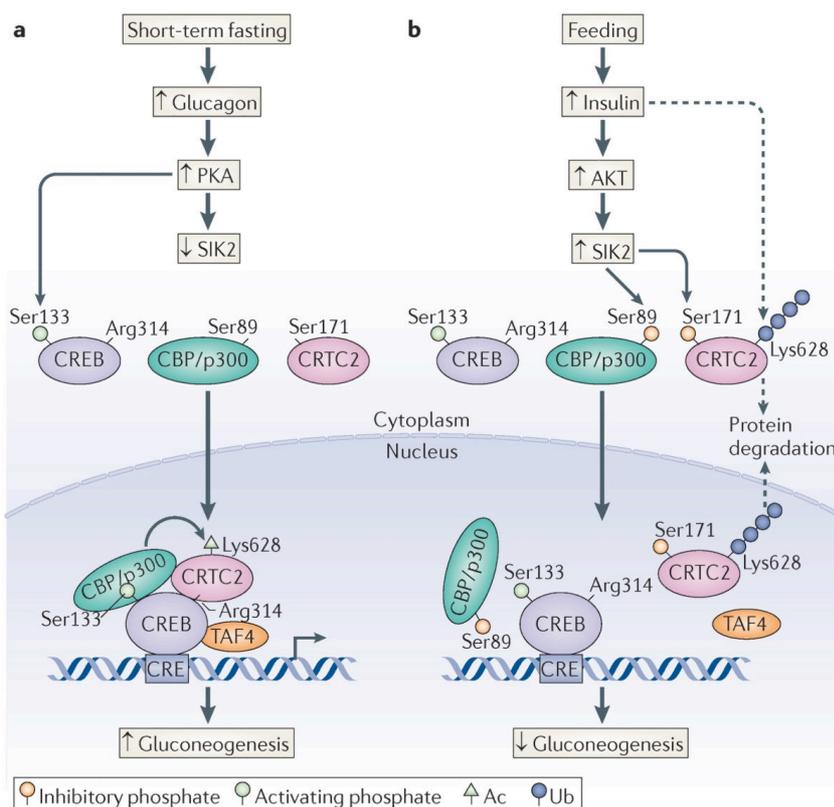
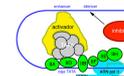


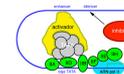
Figura 16. Antagonismo del glucagón y la insulina. Efectos opuestos del glucagón y la insulina en la ruta de CREB. En (a) | El glucagón estimula la fosforilación mediada por la proteína quinasa A (PKA) de CREB en Ser133. La PKA también estimula la actividad del co-activador transcripcional 2, regulado por cAMP (cAMP-regulated transcriptional co-activator CRTC2); a través de la fosforilación e inhibición de la quinasa 2 inducida por la sal (SIK2) por un lado, y por otro, la acción de fosfatasa; que en conjunto producen la desfosforilación de CRTC2. El CRTC2 desfosforilado se trasloca al núcleo, donde se une a CREB y promueve el reclutamiento del factor 4 asociado a TBP (TAF4) y de la proteína de unión a CREB (CBP) y su paralogo p300. El CRTC2 nuclear se estabiliza transitoriamente por acetilación mediada por CBP / p300 (Ac) en Lys 628. (b) La estimulación por insulina estimula la AKT, que fosforila y activa el SIK2. El SIK2 activo interrumpe la interacción CRTC2-CBP / p300 fosforilando CBP / p300 en Ser89, lo que conduce a la desacetilación y degradación dependiente de ubiquitina (Ub) de CRTC2. SIK2 también promueve la translocación citoplasmática de CRTC2 a través de la fosforilación en Ser171. A parte de este mecanismo, hay que recordar que la insulina; además por un lado, activa la PDE que hidroliza el cAMP desconectando la transcripción de los genes de la gluconeogénesis. Y por otro, fosforila los factores FOXFO traslocándolos del núcleo hacia el citoplasma donde son degradados, y por tanto, inhibiendo su efecto estimulante sobre la gluconeogénesis. [9].

5.- Conclusiones

Las conclusiones más importantes son:

a) **SREBP-1c**: actúa como un intermediario de la insulina, activando la expresión de genes glicolíticos y lipogénicos en el hígado; como piruvato quinasa (L-PK), spot 14 (S14), ácido graso sintasa (FAS) etc. SREBP-1c, también inhibe la expresión de genes de enzimas gluconeogénicos; como glucosa 6-fosfatasa, PEP carboxiquinasa FBPasa-1.

b) **ChREBP**: se expresa principalmente en hígado, riñón y tejido adiposo y produce la activación de la transcripción de los genes de L-PK, ACC, FAS en respuesta a la glucosa, coordinando la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos in vivo. Regula la glicólisis-gluconeogénesis.



c) **FOXO1**: estimula la síntesis de enzimas gluconeogénicas y suprime la síntesis de las enzimas de la glucólisis, vía de las pentosa, y lipogénicas.

d) **CREB**: la estimulación de los receptores de glucagon desencadena un aumento en los niveles de cAMP produciendo la fosforilación de CREB por la PKA, que es el responsable del aumento de expresión de los genes de las enzimas gluconeogénicas; G6pase, PC y PEPCK.

6.- Referencias Bibliográfica

[1]- Towle HC Glucose and cAMP: Adversaries in the regulation of hepatic gene expression. PNAS. 2001; 98: 13476–13478.

[2]- Desvergne B, Michalik L, Wahli W. Transcriptional Regulation of Metabolism. Physiol Rev. 2006; 86: 465–514

[3]- Insulin receptor [Internet]. The Wikipedia free Encyclopedia; [última actualización 12 August 2017]. [última visita 20 de agosto 2017]. Disponible en: https://en.wikipedia.org/wiki/Insulin_receptor.

[4]- Olivares J, Arellano A. Bases Moleculares de las Acciones de la Insulina. REB. 2008; 27(1): 9-18

[5]- Principios de regulación metabólica. En: Nelson DL and Cox MM coordinadores. Lehninger Principios de la Bioquímica. 5ª ed. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.; 2009. p 569-613

[6]- King MW. [Internet] Insulin-Mediated Regulation of Metabolic Homeostasis. The medical biochemistry [Última actualización May 26, 2017] [última visita 14 de Agosto, 2017]. Disponible en: <http://themedicalbiochemistrypage.org/insulin-3.php#metabolism>.

[7]- King MW. [Internet] Insulin as a Growth Factor: Regulation of Protein Synthesis. The medical biochemistry [última actualización May 26, 2017] [última visita 15 de Agosto 15, 2017]. Disponible en: <http://themedicalbiochemistrypage.org/insulin-4.php#growth>.

[8]- Wong RHF, Sul HS. Insulin signaling in fatty acid and fat synthesis: a transcriptional perspective. Curr Opin Pharmacol. 2010; 10(6): 684–691

[9]- Altarejos JY, Montminy M. CREB and the CRTC co-activators: sensors for hormonal and metabolic signals. Nat Rev Mol Cell Biol. 2011; 12(3): 141–151.

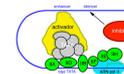
[10]- Dashty M. A quick look at biochemistry: Carbohydrate metabolism. Clin. Biochem. 2013; 46: 1339–1352

ANEXOS:

[11]- Glucólisis, gluconeogénesis y ruta de las pentosa fosfato En: Nelson DL and Cox MM coordinadores. Lehninger Principios de Bioquímica. 4ª ed. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.; 2005. p 521-559.

[12]- Rutas metabólicas y su control. En: Thomas M. Devlin coordinador. Bioquímica. 4ª ed. Barcelona: Ediciones Editorial Reverté, S.A.; 2015. p 535-723

[13]- Harris RA and Crabb DW. Metabolic Interrelationships. In: Thomas M. Devlin. Edited. Text Book Of Biochemistry with clinical correlations. 6ª ed. Hoboken, NJ. USA: WILEY-LISS; 2006. p. 849-890



Anexos:

Anexo I

En éste apartado se describe brevemente las principales rutas metabólicas que están activas en el hígado después de la ingesta de carbohidratos: la glicólisis, la glucogenogénesis y la lipogénesis (síntesis de ácidos grasos y triglicéridos).

La glicólisis o vía Embden-Meyerhof, es un proceso que ocurre en todas las células del organismo, en el que tiene lugar la degradación de la glucosa a piruvato o lactato. Es una vía de gran importancia, dado que gracias a ella obtenemos la energía necesaria para el correcto funcionamiento del organismo y aún más importante si destacamos que contamos con células y tejidos especializados como los eritrocitos y el cerebro que solamente obtienen la energía de la glucosa. [11]

Tabla I. La ruta glucolítica se divide en 3 fases e intervienen 10 enzimas

FASE DE PREPARACIÓN	FASE DE PARTICIÓN	FASE DE OXIDORREDUCCIÓN-FOSFORILACIÓN
1. Hexoquinasa o glucoquinasa	4. Fructosa 1,6-bisfosfato aldolasa	6. Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa
2. Glucosa 6-fosfato isomerasa	5. Triosa fosfato isomerasa	7. Fosfoglicerato quinasa
3. 6-fosfofructosa-1-quinasa		8. Fosfoglicerato mutasa
		9. Enolasa
		10. Piruvato quinasa

En la fase de preparación hay un aporte de dos moléculas de ATP para transformar la glucosa en fructosa 1,6-bisfosfato, la hexoquinasa cataliza este primer paso y aunque se consume ATP, proporciona una buena puesta en marcha dado que atrapa la glucosa 6-fosfato (G6P) (que no tiene ningún papel en la glicólisis) dentro del citosol, donde se encuentran todos los isoenzimas glucolíticos.

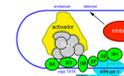
El fosfoglucoisomerasa (paso 2) es una reacción irreversible y como no está sujeta a regulación funciona tanto en la glucólisis como en la gluconeogénesis.

La siguiente reacción es una fosforilación dependiente de ATP de la fructosa 6-fosfato (F6P) que da como resultado Fructosa 1,6-bisfosfato (FBP) y es catalizada por el 6-fosfofructosa-1-quinasa. Esta reacción es irreversible en condiciones intracelulares y utiliza el segundo ATP para preparar la glucosa, dando por concluida la fase de preparación.

En la fase de partición se rompe las moléculas hexacarbonada de la fructosa 1,6-bisfosfato en dos moléculas de gliceraldehído. La fructosa 1,6-bisfosfato aldolasa provoca la rotura de la fructosa 1,6-bisfosfato en una molécula de dihidroxiacetona fosfato (DHAP) y otra de gliceraldehído 3-fosfato (GAP). Es una reacción reversible. Seguidamente la triosa fosfato isomerasa cataliza la transformación de DHAP en GAP, finalizando así esta fase.

En la tercera fase, fase de oxidorreducción-fosforilación se transforman dos moléculas de GAP en dos moléculas de lactato, con el consiguiente aporte de cuatro ATP.

La primera reacción es llevada a cabo por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa. El gliceraldehído 3-fosfato es oxidado a ácido carboxílico, con la reducción de NAD^+ a NADH y además, se produce 1,3-bisfosfoglicerato (anhídrido mixto) que tiene una gran energía libre negativa de hidrólisis lo que permite obtener ATP en las reacciones posteriores. La reacción global es catalizada por la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa y es muy exérgica, y en ella el aldehído se oxida a ácido



carboxílico y el NAD^+ se reduce a NADH . El segundo componente endergónico de la reacción corresponde a la producción del anhídrido mixto entre el ácido fosfórico y el ácido carboxílico. La reacción global supone el acoplamiento de los componentes exergónicos y endergónicos, quedando como resultado una energía libre estándar de 1,5Kcal/mol.

A continuación, la fosfoglicerato quinasa cataliza la siguiente reacción y produce ATP a partir del 1,3-bifosfoglicerato. Esta reacción es un ejemplo de fosforilación a nivel del sustrato. La fosfoglicerato mutasa transforma el 3-fosfoglicerato en 2-fosfoglicerato, esta es una reacción fácilmente reversible y en la que el 2,3-bifosfoglicerato funciona como un intermedio en el centro activo de la enzima

La enolasa lleva a cabo la eliminación de agua del 2-bifosfoglicerato para dar lugar al fosfoenolpiruvato (PEP). En la siguiente reacción, la piruvato quinasa provoca una fosforilación a nivel del sustrato, (la síntesis de ATP con la conversión del compuesto de alta energía PEP en piruvato).

Y por último tenemos una reacción de oxidorreducción llevada a cabo por la lactato deshidrogenasa (en anaerobiosis), reduciéndose así el piruvato a l L-lactato y el NADH se oxida a NAD^+ . Esta reacción es totalmente reversible y es la única que puede dar L-lactato o que puede usar este compuesto.

La glucogenogénesis, es la síntesis de glucógeno. Este proceso se realiza en la mayoría de los tejidos pero especialmente en el músculo y en el hígado. El glucógeno muscular sirve como combustible de reserva para dicho tejido y el hepático como reserva de glucosa para el mantenimiento de la concentración de glucosa sanguínea.

La primera reacción de la glucogenogénesis está catalizada por la glucoquinasa (hígado) o hexoquinasa (tejidos periféricos), transformando la glucosa en glucosa 6-fosfato, que es transformada en glucosa 1-fosfato por la fosfoglucomutasa. La siguiente reacción conlleva la formación de UDP-glucosa (glucosa activada) por la acción de la glucosa 1-fosfato uridilil transferasa. Finalmente, la incorporación de los residuos glucosílicos al glucógeno está catalizada por la acción conjunta de la glucógeno sintasa y el enzima ramificador de 1,4- α -glucano (enzima ramificante).

Lipogénesis, es la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos a partir de intermediarios, que pueden proceder de la degradación de azúcares, aminoácidos u otros ácidos grasos. El ácido palmítico (cadena de 16 carbonos) es el precursor de todos los ácidos grasos de cadenas más largas, por aposición de acetil CoA catalizado por las elongasas en el RE.

Todo comienza con la formación de acetil CoA a partir de piruvato gracias a la piruvato deshidrogenasa en la matriz de la mitocondria, luego por la acción de la citrato sintasa obtenemos citrato que es transportado el citosol por un trasportador de tricarboxilato, una vez ocurrido esto, actúa la ATP-citrato liasa para obtener acetil-CoA y OAA que es reducido por la malato deshidrogenasa para dar malato. Éste se descarboxila por la enzima málico para dar NADPH y piruvato que vuelve a la mitocondria.

El primer paso en la síntesis de ácidos grasos es la formación del malonil CoA, reacción catalizada por acetil CoA carboxilasa. A continuación la ácido graso sintasa mediante reacciones sucesivas cíclicas de: condensación, reducción, deshidratación y reducción da como producto final el palmitato.

Por último, se lleva a cabo la fase de alargamiento del palmitato obteniéndose acil CoA de cadena larga necesario para formación de triglicéridos. [12]

Tabla II. Enzimas involucradas en la glucogenogénesis y la lipogénesis	
GLUCOGENOGÉNESIS	LIPOGÉNESIS
1. Hexoquinasa o glucoquinasa	6. Piruvato deshidrogenasa
2. Fosfoglucomutasa	7. Citrato sintasa
3. Glucosa 1-fosfato uridilil transferasa	8. ATP-citrato liasa
4. Glucógeno sintasa	9. Malato deshidrogenasa
5. Enzima ramificador de 1,4- α -glucano	10. Acetil CoA carboxilasa
	11. Ácido graso sintasa
	12. Enzimas de la fase de alargamiento



Anexo II

En este apartado se describe las principales rutas metabólicas que se activan durante el ayuno: la gluconeogénesis (hígado), la lipólisis (tejido adiposo) y β -oxidación de ácidos grasos y la formación de cuerpos cetónicos en hígado.

La gluconeogénesis, es la síntesis de novo glucosa a partir de sustratos no glucídicos, usando como fuente de carbono aminoácidos, lactato, piruvato, propionato y glicerol. Es crucial para mantener los niveles óptimos de glucosa sanguínea y mantener el metabolismo en aquellos tejidos que usan la glucosa como sustrato primario, como es el caso del cerebro, hematíes, médula renal, testículos y cristalino y cornea del ojo.

El primer paso de esta ruta es la conversión de lactato a piruvato mediante la lactato deshidrogenasa; posteriormente el piruvato se convierte en oxalacetato (OAA) por la acción de la piruvato carboxilasa consumiendo un ATP. A continuación el OAA se transforma en aspartato por acción de la aspartato aminotransferasa, y es transportado al citosol donde se transamina con α -KG produciendo glutamato y OAA; a partir de éste último, se sintetiza PEP por acción de la PEP carboxiquinasa citosólica.

Una vez alcanzado este punto se obtiene fructosa 1,6 bifosfato siguiendo la ruta glucolítica pero a la inversa. Éste metabolito es defosforilado irreversiblemente por La fructosa 1,6-bisfosfatasa para dar fructosa 6 fosfato. Finalmente por acción secuencial de la fosfoglucoisomerasa primero, y la glucosa 6-fosfatasa después se obtiene glucosa que es liberada a la sangre.

Glucogenólisis, es la degradación de glucógeno a glucosa 6-fosfato (músculo) o glucosa (hígado) para ser usada como combustible de uso inmediato.

La enzima principal que interviene en la degradación del glucógeno es la glucógeno fosforilasa. La enzima cataliza la ruptura del enlace glucosídico α -1,4 del glucógeno por fosforólisis dando como resultado glucosa 1-fosfato, que por acción de la fosfoglucomutasa da glucosa 6-fosfato, cuyo destino depende de donde se realice el proceso. En el músculo entra en la glucólisis; sin embargo en el hígado, la glucosa 6-fosfatasa, producirá hidrólisis dando glucosa libre que se libera a la sangre. Otro enzima que interviene en la degradación del glucógeno es el enzima desramificante (4- α -D-glucano transferasa que rompe los enlaces α -1,6 en los puntos de ramificación del glucógeno. Esta enzima posee dos actividades enzimáticas:

1. **Actividad transferasa:** elimina una cadena de tres residuos glucosilo desde una ramificación de cuatro residuos, dicha cadena de tres es transferida a un 4-ghidroxilo libre al final de la misma molécula o a una molécula adyacente. Quedando así un residuo glucosilo en el enlace α -1,6.
2. **Actividad glucosidasa (actividad amilo- α -1,6-glucosidasa):** produce la hidrólisis de la última unidad α -D-glucosa.

La acción cooperativa y repetitiva de ambas enzimas da como resultado la fosforólisis hidrólisis completa del glucógeno. [12]

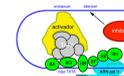


Tabla III. Algunas enzimas involucradas en la gluconeogénesis y glucogenólisis	
GLUCONEOGÉNESIS	GLUCOGENÓLISIS
1. Lactato deshidrogenasa	9. Glucógeno fosforilasa
2. Piruvato carboxilasa	10. Fosfoglucomutasa
3. Aspartato aminotransferasa	11. Glucosa 6-fosfatasa
4. α -KG	12. 4- α -D-glucano transferasa (actividad transferasa)
5. PEP carboxiquinasa citosólica	13. 4- α -D-glucano transferasa (actividad glucosidasa)
6. Fructosa 1,6-bifostasa	
7. Fosfoglucoisomerasa	
8. Glucosa 6-fosfatasa	

La lipólisis (degradación de triglicéridos en el tejido adiposo) y β -oxidación de ácido grasos (hígado), es la utilización de los ac. grasos como fuente de energía. La β -oxidación mitocondrial es la ruta principal, los ácidos grasos se oxidan y se va eliminando secuencialmente fragmentos de 2 carbonos (acetato) desde el extremo carboxilo mediante cuatro reacciones que se repiten cíclicamente: deshidrogenación, hidratación y oxidación para formar un β -cetoácido, que se fractura dando acetil-CoA y el ácido graso acortado en dos carbonos.

Lo primero que ocurre es la activación del ac. graso a acil-CoA graso (citoplasma) gracias a la acil-CoA sintetasa. Seguidamente los grupos acilos son transportados al interior de la mitocondria unidos a la carnitina (acilcarnitina).

La β -oxidación se da en cuatro pasos:

1. Oxidación del acil CoA graso catalizada por la acil-CoA deshidrogenasa dando trans- Δ^2 enoil-CoA.
2. Hidratación del doble enlace trans a 3-L-hidroxiacil CoA gracias a la H_2O enoil-CoA hidratasa.
3. Oxidación del L-hidroxiacil CoA por NAD^+ en β -cetoacil CoA por acción de la 3-L-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa.
4. El último paso es la rotura del fragmento de acetato por acción de una tiolasa (β -cetoacil-CoA tiolasa) obteniéndose como resultado acetil CoA y un acil-CoA graso (2 átomos de C más corto).

En las figuras 3 y 4 se simplifica la ruta.

Formación de cuerpos cetónicos, (ver figura 3 y 4). El principal órgano que sintetiza estos compuestos es el hígado, y en menor medida el riñón. Son formas hidrosolubles de la energía basada en lípidos, (acetoacetato y β -hidroxibutirato).

El proceso ocurre en la matriz mitocondrial, donde la β -acetotiolasa condensa dos moléculas de acetil-CoA para dar acetoacetyl CoA. A continuación este se vuelve a condensar con otro acetil CoA catalizado por la HMG-CoA sintetasa para formar el β -hidroxi β -metil glutaril CoA (HMG CoA); la acción de la HMG-CoA liasa produce la rotura de este compuesto regenerando una molécula de acetil CoA y acetoacetato; éste último se puede reducir con NADH dando D-hidroxibutirato (hidroxibutirato deshidrogenasa), o por el contrario se puede descarboxilar para dar acetona.

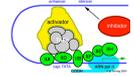


Tabla IV. Enzimas involucradas en la β -oxidación y en la formación de cuerpos cetónicos	
β -OXIDACIÓN	FORMACIÓN CUERPOS CETÓNICOS
14. Acil-CoA sintetasa	20. β -acetotilasa
15. Carnitina palmitoil transferasa I	21. HMG-CoA
16. Acil-CoA deshidrogenasa	22. HMG-CoA liasa
17. H ₂ O enoil CoA-hidratasa	23. β -hidroxibutirato deshidrogenasa
18. 3-L-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa	
19. β -cetoacil-CoA tiolasa	

Anexo III

a) Enzimas hepáticas que son inducidas después de la ingesta.

En la **figura 17** se muestran las principales rutas metabólicas activadas después de la ingesta: la glicólisis, vía de las pentosas fosfato y la lipogénesis (síntesis de ácidos grasos y triglicéridos).

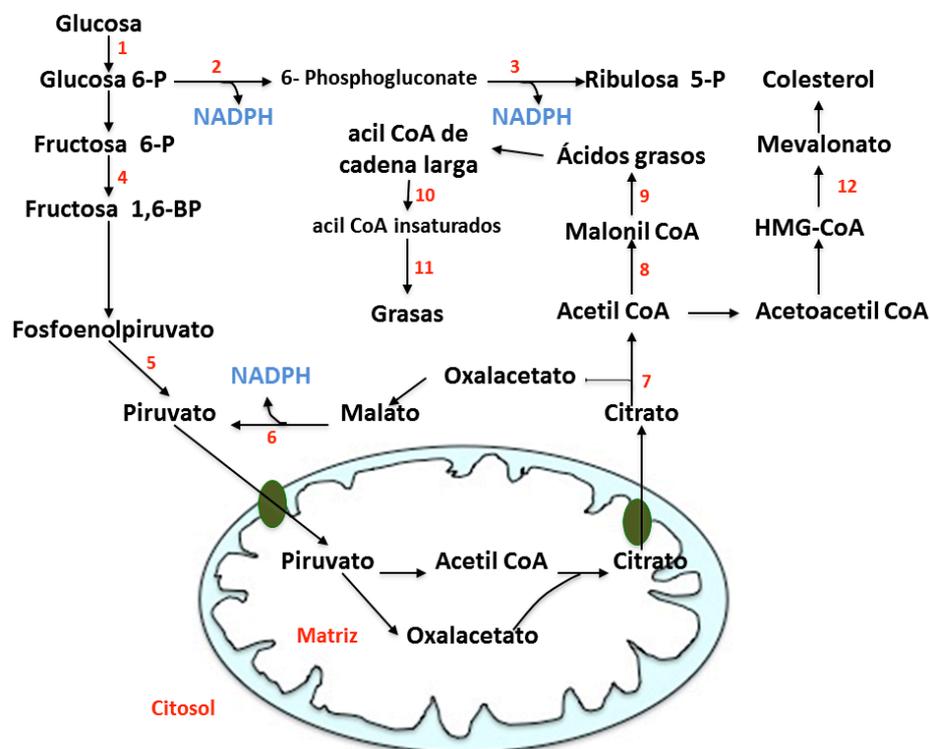
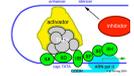


Figura 17. *Enzimas hepáticas inducidas por la ingesta.* En la figura se muestra una visión parcial de las diferentes rutas que están activas después de la ingesta: glicólisis, vía de las pentosas fosfato, síntesis de ácidos grasos, triglicéridos, fosfolípidos (no mostrado) y colesterol; así como, aquéllas enzimas (enumeradas del 1 al 12) que experimentan un incremento en el nivel de expresión de sus genes. 1) Hexokinasa IV; 2) Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa; 3) 6-fosfogluconato deshidrogenasa; 4) 6-Fosfofructokinasa-1 (PFK-I); 5) Piruvatokinasa; 6) Enzima málico; 7) ATP-citrato liasa; 8) Acetil-CoA



carboxilasa; 9) Complejo de la ácido graso sintasa; 10) Estearil-CoA deshidrogenasa; 11) Acil-CoA-glicerol transferasa; 12) 3-hidroxi-3 metil-glutaril-CoA (HMG-CoA reductasa). [13]

b) Enzimas hepáticas que son inducidas durante el ayuno.

En la **Figura 18** se muestran las principales rutas metabólicas que están activas en los periodos de ayuno o entre comidas: gluconeogénesis, oxidación de ácidos grasos y síntesis de cuerpos cetónicos.

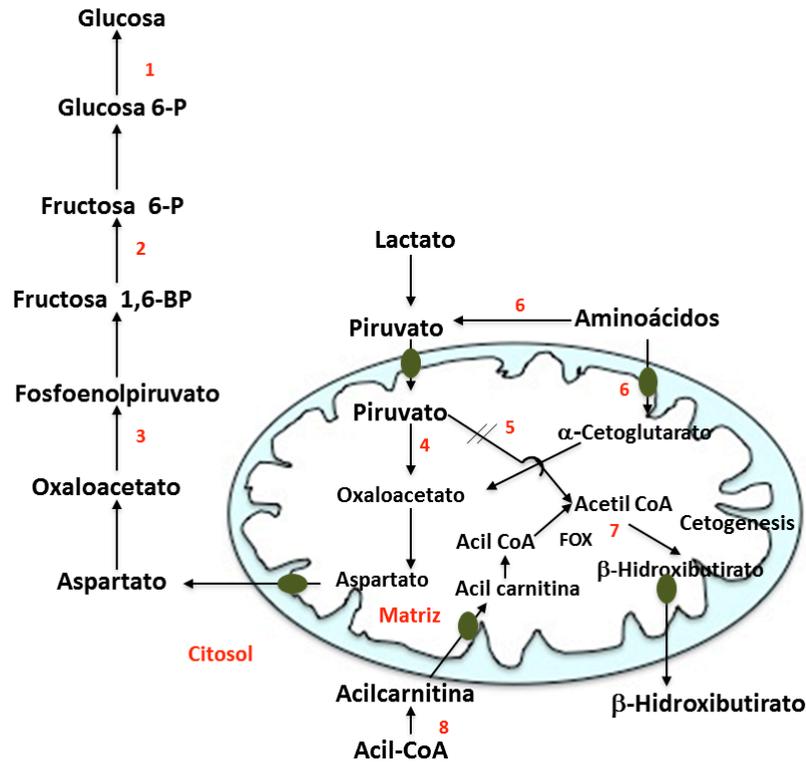


Figure 18. *Enzimas hepáticas inducidas durante el ayuno.* En la figura se muestra una visión parcial de las diferentes rutas que están activas durante el ayuno: gluconeogénesis, oxidación de ácidos grasos y síntesis de cuerpos cetónicos; así como, aquéllas enzimas (enumeradas del 1 al 8) que experimentan un incremento en el nivel de expresión de sus genes. 1, glucosa 6 fosfatasa; 2, fructosa 1-6 bifosfatasa; 3, fosfoenolpiruvato carboxikinasa; 4, piruvato carboxilasa; 5, piruvato deshidrogenasa; 6, diferentes aminotransferasas; 7, 3-hidroxi-3-metil glutaril-CoA sintasa; y 8, carnitina palmitoil transferasa I. Abreviación FOX Fatty acid oxidation. [13]