

8. Papel de la glucoquinasa como sensor cerebral de glucosa y su contribución en el control de la ingesta de alimentos

ENRIQUE BLÁZQUEZ FERNÁNDEZ

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular, Académico de Número de la Real Academia Nacional de Medicina. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense y Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Clínico San Carlos-Pab. 8, Madrid.

RESUMEN

La glucosa es utilizada por las células fundamentalmente como un sustrato energético, pero también como una molécula de señalización implicada en procesos de gran importancia funcional, tales como los sistemas sensores. La isoforma del transportador de glucosa GLUT-2 y especialmente la glucoquinasa (GK) han sido considerados como componentes de un sistema sensor de glucosa, que controla varios procesos claves como la secreción de insulina dependiente de glucosa y la estimulación de la captación de glucosa por el hígado y músculo esquelético. De la misma forma este sistema podría modular la conducta alimentaria, y la liberación de las hormonas contrareguladoras en respuesta a estados de hipoglucemia. Nuestros resultados indican que los ARN mensajeros y proteínas de GLUT-2 y GK se coexpresan principalmente en células del hipotálamo de humanos y animales de experimentación, en áreas responsables del control de la ingesta de alimentos. También hemos encontrado una actividad fosforilante de la glucosa con una alta K_m y con propiedades cinéticas semejantes a las descritas previamente en hígado, y que no es inhibida por glucosa-6-fosfato. La actividad de la GK puede también ser regulada por una proteína reguladora de GK (GKRP), la cual he-

mos identificado en cerebro en las mismas áreas que la GK. La coexpresión de GLUT-2, GK y GKRП en áreas implicadas en el control de la ingesta, podrían jugar un papel como sensores de glucosa, en los que GLUT-2 puede tener un papel permisivo y las interacciones de GK con GKRП desempeñar una auténtica actividad sensora de glucosa. Además el papel de los péptidos anorexígenos y orexígenos a través de sus receptores en este sistema podrían facilitar la transducción de señales requeridas para producir un estado de saciedad. De hecho en este artículo presentamos evidencias experimentales de que el GLP-1, un péptido anorexígeno, controla el metabolismo de glucosa en el hipotálamo de humanos dentro de un área implicada en la regulación de la conducta alimentaria.

ABSTRACT

Glucose is used mainly as an energy substrate but also as a signaling molecule implied in processes of primary functional concern, such as glucose sensing. Glucose transport isoform GLUT-2 and especially glucokinase (GK) have been considered as components of a glucose sensor system controlling several key processes such as, glucose-dependent insulin secretion, and stimulation of glucose uptake by liver and skeletal muscle. In the same way this system might modulate feeding behavior and the release of counterregulatory hormones that defend against hypoglycaemia. Our findings indicate that GLUT-2 and GK mRNAs and proteins are coexpressed mainly in the hypothalamus of human and experimental animals, in areas implied in the control of food intake. Also, a high K_m glucose phosphorylating activity with kinetic properties similar to that reported previously in liver was observed, with a high apparent K_m for glucose that displays no product inhibition by glucose-6-phosphate. GK activity may be also regulated by the presence of glucokinase regulatory protein (GKRП), which we have found in the brain of human and experimental animals, in the same areas than GK. Coexpression of GLUT-2, GK and GKRП in areas implied in feeding behaviour might play a role in glucose sensing, in which GLUT-2 has a permissive role and the interactions of GK with GKRП made possible a real sensor activity. Furthermore the effects of anorexigenic and orexigenic peptides through its receptors in this system, should facilitate the transduction of signals required to produce a state of satiety. In fact here we present experimental evidences that GLP-1, an anorexigenic peptide, controls the glucose

metabolism in the human hypothalamus within of an area involved in the regulation of feeding behavior.

CONDUCTA ALIMENTARIA, CONTROL DEL PESO CORPORAL Y NEUROPEPTIDOS

Por estudios realizados hace más de 60 años, con lesiones o estimulaciones en distintas áreas cerebrales, conocemos que el hipotálamo juega un papel fundamental en la regulación de la conducta alimentaria y de la homeostasis energética. Fundamentados en observaciones como la estimulación eléctrica del núcleo ventromedial hipotalámico (VMN) que suprimía la ingesta de alimentos y que las lesiones bilaterales de esta estructura producían hiperfagia y obesidad, el VMN fue denominado centro de la saciedad, mientras que las alteraciones inducidas en el área lateral hipotalámicas (LHA) producían respuestas opuestas a las anteriores y por ello fue llamada el centro del hambre. En estos procesos también están implicada la médula oblongata dorsomedial, que incluye el núcleo del tracto solitario (NTS) y el núcleo motor del vago (1,2). Estas áreas cerebrales usan nervios autónomos para modular la homeostasis de la glucosa en hígado y páncreas endocrino, produciendo en VMN y núcleo paraventricular (PVN) efectos inhibitorios sobre la actividad del nervio vago y efectos excitatorios sobre la actividad del nervio esplácnico, mientras que LHA es excitadora para el nervio vago. Asimismo estas regiones se modifican por señales metabólicas, con cambios de la actividad eléctrica de las neuronas por la aplicación directa de glucosa o por alteraciones en las concentraciones circulantes de glucosa. En este sentido la glucosa es principalmente excitadora en VMN e inhibitoria en LHA y NTS, y ambas respuestas sugieren la presencia de sensores de glucosa en dichas áreas del cerebro (2).

En las últimas décadas nuestro conocimiento sobre estos temas se ha enriquecido considerablemente, hasta el punto que actualmente sabemos de la existencia de subpoblaciones específicas de neuronas implicadas en la homeostasis energética, localizadas en los centros del hambre y la saciedad. Estas constituyen rutas neuronales que contienen péptidos orexígenos y anorexígenos, capaces de generar respuestas integradas a estímulos aferentes relacionados con modificaciones de metabolitos o de los depósitos de nutrientes.

Un grupo de hormonas peptídicas, que previamente se consideraron como componentes del sistema gastroenteropancreático y más tarde fueron identificadas en cerebro de mamíferos, tienen actividades moduladoras sobre el apetito,

procesos energéticos y peso corporal (3). Ellos participan junto con otros neuropéptidos como los opiáceos, galanina, neuropéptido Y, vasopresina y GHRH en el control de la conducta alimentaria, donde los efectos contrapuestos de los péptidos orexígenos y anorexígenos juegan un papel importante.

Se acepta que las células de varios núcleos hipotalámicas detectan señales de saciedad procedentes de la periferia que transmiten a otras áreas del cerebro. Los péptidos orexígenos y anorexígenos localizados en PNV, VMN, LHA y núcleo arqueado interactúan unos con otros de forma que pueden inducir una conducta alimentaria característica. Así el péptido YY (3-36) es liberado postprandialmente desde el intestino (4) y actúa sobre los receptores NPY Y2 en el núcleo arqueado para inhibir la ingesta de alimentos con efecto a largo plazo, mientras que la grelina es secretada desde el estómago preprandialmente y actúa como un péptido orexígeno. Por otra parte péptidos de origen cerebral e intestinal como GLP-1, GLP-2 y CCK producen un efecto a corto plazo, mientras que insulina y leptina inhiben el apetito por aumento de la formación de POMC y disminución de la acción de NPY (5).

Los péptidos semejantes al glucagón 1 y 2 (6,7) modifican sensiblemente la conducta alimentaria. La administración intracerebroventricular o subcutánea produce una marcada reducción de la ingesta de alimentos y agua. La exendina-4, un potente agonista del GLP-1 (7-36) amida, tiene efectos más potentes que éste, que son bloqueados por las acciones antagonistas de la exendina (9-39). Estos hallazgos sugieren que el GLP-1 (7-36) amida puede modular la ingesta de alimentos y de líquidos a través de mecanismos centrales y periféricos. El GLP-1 (7-36) amida después de su administración subcutánea puede penetrar en cerebro mediante su unión a estructuras sin barrera hematoencefálica, como el órgano subfornical y el área postrema (8). Alternativamente el péptido podría ser internado en el cerebro a través del plexo coroideo, el cual tiene una gran concentración de receptores para GLP-1 (9).

La utilidad potencial de la administración periférica comparada con la central de los agonistas del receptor de GLP-1 sobre la conducta alimentaria ha sido estudiada en ratas obesas Zucker con resistencia a la acción de la insulina (10). Tanto la administración central o subcutánea de GLP-1 (7-36) amida o exendina-4 reducen la toma de alimentos, con un efecto más potente para el segundo agonista. Así la administración subcutánea crónica de exendina-4 no sólo disminuye la ingesta de alimentos sino que también reduce la ganancia de peso en las ratas obesas. Estas observaciones resaltan la utilidad de la exendina-4 como

agente para el tratamiento de la obesidad y/o diabetes. De hecho ambos agonistas del receptor de GLP-1 regulan la glucemia mediante la estimulación de la secreción de insulina dependiente de glucosa (11), la inhibición de la secreción de glucagón (12) y del vaciamiento gástrico (13), lo cual facilita el descenso de la glucemia en los diabéticos tipos 1 y 2 (14).

Por otra parte la administración intracerebroventricular de GLP-2 a roedores produce una reducción marcada de la ingesta de alimentos, pero no de la toma de agua. Sorprendentemente este efecto se puede evitar con la administración de exendina (9-39), un antagonista del receptor de GLP-1.

SISTEMAS SENSORES DE GLUCOSA

La homeostasis de la glucosa requiere de mecanismos hormonales y nerviosos para hacer frente al normal funcionamiento del cerebro y los tejidos periféricos. De esta forma la glucosa se necesita como un sustrato energético, pero también como una molécula de señalización implicada en la secreción de insulina dependiente de glucosa, la estimulación del transporte y la utilización de glucosa por el músculo, así como modula la conducta alimentaria y la liberación de hormonas contrareguladoras ante situaciones de hipoglucemia. Por tanto los mecanismos glucoreguladores son fundamentales para proporcionar un suministro continuo de glucosa al sistema nervioso central y para hacer frente a las necesidades metabólicas de los tejidos periféricos. Las concentraciones circulantes de glucosa se mantienen dentro de un rango fisiológico dependiendo del estado alimentario del individuo, los efectos antagonistas de las hormonas pancreáticas insulina y glucagón, las actividades del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal y los componentes del sistema nervioso autónomo. Alteraciones de los valores normoglucémicos tienen consecuencias deletéreas que aumentan la morbilidad y mortalidad de la población. Con objeto de evitar oscilaciones marcadas de la glucemia, los sensores de glucosa actúan en el intestino, células pancreáticas endocrinas, vena porta, sistema nervioso central y algunas células neuroendocrinas, lo cual permite generar los mecanismos necesarios para mantener la homeostasis de la glucosa.

Los sensores de glucosa son diseños moleculares que determinan con precisión las concentraciones de glucosa en el espacio extracelular. La primera indicación sobre la existencia de un sistema sensor de glucosa fue descrito en las células pancreáticas beta (15), constituido por la isoforma del transportador de glucosa GLUT-2 y por la glucoquinasa (GK). Estas proteínas tienen una alta K_m

para transportar o fosforilar glucosa respectivamente, lo cual permite que intervinan cuando aumenta la glucemia después de las comidas. Las células pancreáticas beta detectan las concentraciones de glucosa mediante los productos de su catabolismo, de forma que el grado del catabolismo de la glucosa debe ser proporcional a las concentraciones de glucosa en el espacio extracelular. La actividad del GLUT-2 juega un papel permisivo para el catabolismo de la glucosa, pero no es determinante como sensor de glucosa, ya que el transporte de glucosa en las células beta es 100 veces más alta que el grado de metabolización de la hexosa. En contraposición con ello, la GK cataliza el paso limitante del metabolismo de la glucosa actuando como un auténtico sensor de glucosa. La GK controla la oxidación de la glucosa y la formación de ATP, y como consecuencia de ello incrementa el cociente ATP/ADP que facilita el cierre de los canales de potasio y la despolarización de las células beta, lo cual promueve la apertura de los canales de calcio dependientes del aumento del voltaje celular. Estos cambios inducen una elevación del calcio intracelular responsable de la exocitosis de los gránulos de secreción de insulina.

Otro sistema sensor de glucosa está localizado en la vena porta cercano al hilio hepático y conectado a través de las ramas hepáticas del nervio vago a neuronas sensoras presentes en el hipotálamo lateral y el núcleo del tracto solitario (16). Este sensor de glucosa hepatoportal está constituido por GLUT-2 y los receptores de GLP-1 y somatostatina, los cuales requieren un gradiente de concentración de glucosa positivo para ser activado, y de esta manera controlar varias funciones como, la estimulación del transporte de glucosa hepático, la descarga del nervio vago, y el incremento de la utilización de la glucosa por el músculo esquelético.

Además la GK está presente en las células L y K intestinales productoras respectivamente de GLP-1 y GIP, y en las que puede jugar un papel sensor de glucosa, facilitador de la secreción de ambos péptidos en respuesta a la ingesta de alimentos, asegurando la actividad incretina de ambas moléculas dentro del eje entero-insular. Asimismo en la mucosa intestinal se han caracterizado sensores de glucosa que utilizan la GK como el auténtico detector de las concentraciones de la hexosa. Otros sistemas sensores de glucosa han sido descritos en cerebro, cuyas características e importancia se analizarán en el apartado siguiente.

SENSORES DE GLUCOSA EN CEREBRO

Por los estudios realizados por nuestro grupo sabemos que los genes de GLUT-2, GK y de los receptores de GLP-1 se coexpresan en células

del hipotálamo de humanos y ratas, localizadas en áreas implicadas en la regulación de la homeostasis energética, ingesta de alimentos, metabolismo de la glucosa y del sistema nervioso autónomo (6, 9, 10, 17-19). La colocalización en estas células podría sugerir que intervienen en un sistema sensor de glucosa necesario para el establecimiento de un estado de saciedad.

Al menos dos tipos de sensores de glucosa neuronales han sido descritos. Uno corresponde a las neuronas estimuladas (GE) por glucosa (20), presentes en el 40% del VMN del hipotálamo, que son excitadas por el aumento de glucosa en el espacio extracelular. Una conducta electrofisiológica similar ha sido observada en las células pancreáticas beta. Por el contrario el 30% de las neuronas inhibidas (GI) por la glucosa (21) en la LHA constituyen el segundo tipo, y al igual que las neuronas mientéricas o las células pancreáticas alfa son excitadas por la disminución de las concentraciones de glucosa en el espacio extracelular. Las similitudes entre neuronas sensoras y algunas células endocrinas son también evidentes por la presencia de canales de K^+_{ATP} que contribuyen a la despolarización de estas células. La activación de ellas por glucosa está basada en el hecho que los bloqueantes del transporte de glucosa o de la glucólisis impiden la actividad eléctrica inducida por la glucosa, mientras que otros nutrientes como el glicerol, gliceraldehido y lactato mimetizan los efectos de la glucosa (22). Ambos tipos de células sensoras de glucosa tienen GK al igual que receptores para moléculas orexígenas y anorexígenas, lo que las capacita para jugar un papel en el control de la ingesta de alimentos.

Cuando las neuronas GE son expuestas a elevadas concentraciones de glucosa, la activación de la GK produce un incremento del cociente ATP/ADP y como consecuencia de ello una inactivación del canal de K^+_{ATP} , que da lugar a una despolarización de la membrana (23). Esto motiva la entrada de calcio a la célula mediada por una apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje. A pesar de la amplia distribución en cerebro de los canales de potasio, tan sólo áreas selectivas de este órgano muestran propiedades sensoras de glucosa, lo cual parece estar condicionado por la actividad de la GK. Esta enzima está presente en las células GE, donde la elevación de la glucosa estimula la expresión de c-fos, y también en las GI donde la hipoglucemia también induce la expresión de c-fos (24). En la misma dirección cuando las concentraciones de glucosa disminuyen, los niveles de calcio aumentan en las neuronas GI, pero aparecen reducidos en las células GE. El uso de inhibidores de la GK sugieren

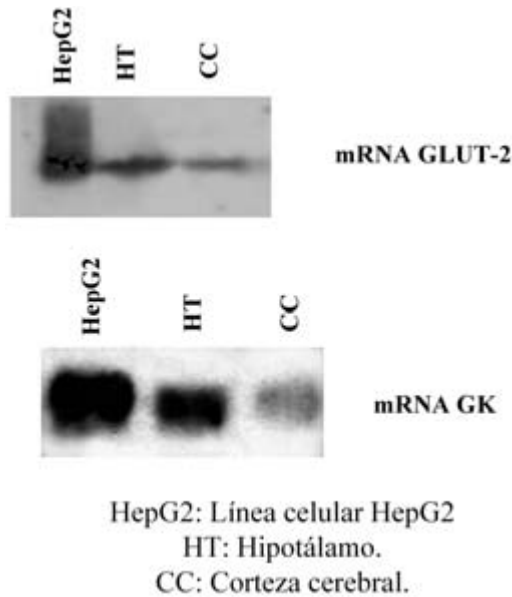


FIGURA 1. Expresión del ARN mensajero de GLUT-2 y GK en cerebro humano.

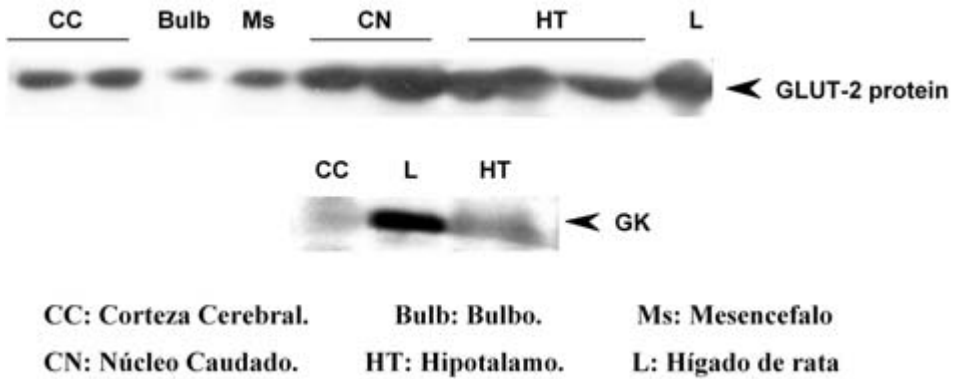


FIGURA 2. Detección por inmunotransferencia de las proteínas GLUT-2 y glucoquinasa (GK) en diferentes regiones de cerebro humano e hígado de rata.

que las neuronas GE podrían ser inactivadas por un descenso del cociente ATP/ADP y activación del canal de potasio, mientras que las células GI podrían ser activadas por un descenso de la concentración de glucosa en un proceso mediado por un canal de potasio, una bomba sodio-potasio dependiente de ATP, o por un canal de cloruro. Estas sugerencias están apoyadas por las observa-

TABLA 1. *Actividades fosforilantes de glucosa en cerebro e hígado.*

Tejido estudiado	Actividad fosforilante total de glucosa (pmol [14C]-Glc6P/min x µg protein)	Actividad hexoquinasa de baja Km (%)	Actividad glucoquinasa (%)
Hígado	0.51-3.60 (10)	16.1 ± 1.4	83.9 ± 1.4
Hipotálamo	6.7-13.4 (12)	59.6 ± 0.85	40.4 ± 0.85
Corteza cerebral	5.8-14.9 (8)	59.3 ± 1.1	40.7 ± 1.1
Tálamo	6.4-13.0 (8)	63.6 ± 0.9	36.4 ± 0.9
Tronco del encéfalo	6.1-10.3 (4)	64.4 ± 2.3	35.6 ± 2.3
Cerebelo	4.1-7.6 (4)	81.0 ± 5.3	19.0 ± 5.3
Amígdala	4.3-8.2 (8)	80.1 ± 0.8	19.9 ± 0.8

Las actividades de las hexoquinasas de baja Km y la glucoquinasa se expresa en Medias ± Error estándar. En paréntesis el número de experimentos.

TABLA 2. *Parámetros cinéticos de la hexoquinasa de baja Km y de la glucoquinasa en fracciones solubles de hipotálamo.*

Actividad de glucoquinasa		Actividad de las hexoquinasas de baja Km	
V _{max} (pmol NADPH/min ⁻¹ /µg proteina ⁻¹)	K _m para glucosa (mM)	V _{max} (pmol NADPH/min ⁻¹ /µg proteina ⁻¹)	K _m para glucosa (mM)
22.2	15.0	82.3	0.08

ciones de una mayor expresión de la GK en estados con alteraciones en los sistemas sensores de glucosa, tales como en la obesidad o situaciones posteriores a la hipoglucemia (25).

Mediante la utilización de distintas técnicas hemos encontrado la expresión de los ARN mensajeros y proteínas correspondientes a GLUT-2, GK (Figs. 1 y 2) y receptor de GLP-1 en el cerebro de humanos y ratas (6,9,10,17-19). De esta forma con la hibridación in situ hemos descrito la presencia de los ARN mensajeros de estas moléculas en distintas localizaciones del cerebro, con una alta proporción de células positivas en el hipotálamo. También con el uso de análisis RT-PCR y posterior separación con "Southern blot" de los productos obtenidos por PCR identificamos los ARN mensajeros de GLUT-2 y GK. La expresión de estos genes en cerebros de humanos y rata da lugar a las proteínas GLUT-2 y GK de 62 y 52 kDa respectivamente. Por otra parte una actividad fosforilante de glucosa con alta Km la encontramos en las mismas áreas cerebrales (Tablas 1 y 2). Pero la caracterización de estos compo-

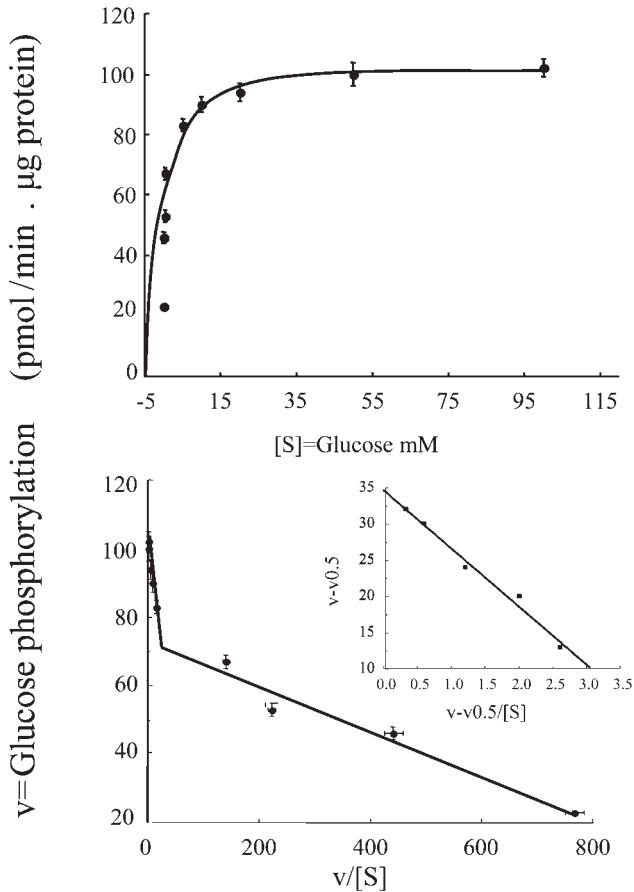


Figura 3. Análisis cinético de las actividades fosforilantes de glucosa en extractos solubles de hipotálamo.

nentes incluye no sólo el estudio de la expresión génica sino también las propiedades cinéticas de la enzima, porque como ocurre en la hipófisis de rata la presencia del ARN mensajero de GK no asegura la actividad fosforilante de glucosa. Tanto en el cerebro de humanos como de rata la GK (18,26) presenta propiedades cinéticas similares (Fig. 3) a las descritas previamente para la enzima de origen hepático o pancreático, con una alta K_m para la glucosa y sin inhibición por la glucosa-6-fosfato. La contribución de la GK a la actividad fosforilante de glucosa total oscila entre el 30-10% en diferentes regiones cerebrales, en comparación con el 85% en hígado de rata o del 50-24% descrito en los islotes pancreáticos.

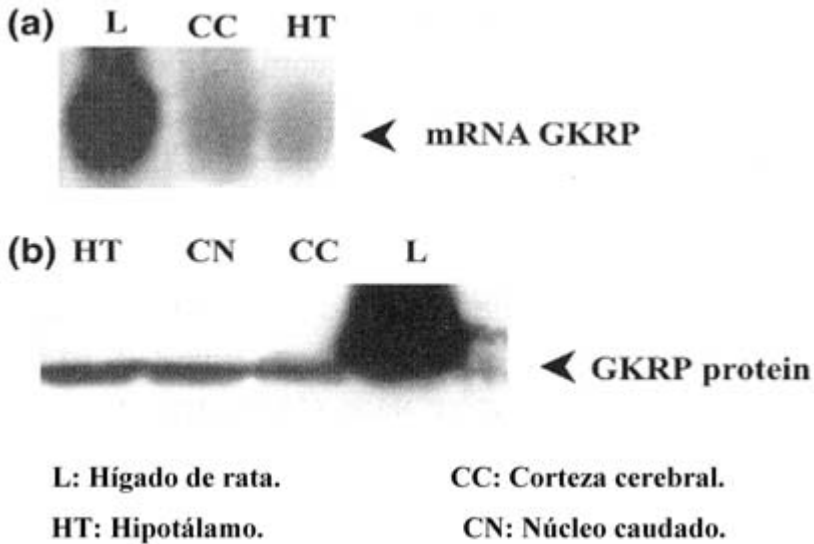


FIGURA 4. Expresión del ARN mensajero y la proteína GKRP (proteína reguladora de la glucoquinasa) en cerebro humano e hígado de rata.

Aunque la GK está codificada por un solo gen, la presencia de promotores alternativos permite la expresión de proteínas distintas en hígado por una parte y en los islotes pancreáticos y cerebro por otra. De esta forma las isoformas hepática (L1) y pancreática (B1) difieren en 15 aminoácidos en la porción N-terminal. Nosotros hemos encontrado un mismo patrón de los productos génicos de la GK en el hipotálamo y los islotes pancreáticos de rata, siendo la isoforma que codifica para B1 la más abundante y pequeñas las isoformas que codifican (26) para B2,P1, P2,P1/B2 y P2/B2. Los patrones distintivos de las isoformas de la GK pueden modular su actividad. De hecho la GK hepática es regulada por insulina, mientras que la isoforma de origen pancreático o cerebral parece que es regulada postranscripcionalmente por las concentraciones de glucosa. Estos hallazgos refuerzan la idea sobre el papel de la glucosa como una molécula de señalización en determinadas áreas cerebrales.

La actividad de la GK puede también ser regulada por la proteína reguladora de la glucoquinasa (GKRP), la cual (27) en presencia de fructosa-6-fosfato se une a la GK e inhibe su actividad, mientras que la fructosa-1-fosfato impide la formación del complejo. En hígado la translocación subcelular de la GK regula la actividad enzimática de acuerdo con las necesidades metabólicas de

las células. De esta forma, la GKRK está presente fundamentalmente en el núcleo, y la localización de ambas proteínas cambia en función del estado metabólico. Bajo una situación basal la GK y la GKRK están unidas en el núcleo celular, pero en el estado post-prandial, cuando las concentraciones de glucosa y fructosa aumentan, la GK es liberada de la GKRK y permanece libre en el citoplasma lista para fosforilar la glucosa. Estos hallazgos indican que la GKRK funciona como un inhibidor alostérico de la GK y también como un sensor metabólico. Estudios realizados en ratones con deficiencia de GKRK sugieren un papel regulador y estabilizador de esta proteína en el mantenimiento de una cantidad adecuada de GK en hígado.

También hemos caracterizado la expresión del ARN mensajero y la proteína de la GKRK (Fig. 4) en el cerebro de humanos y rata. Con la técnica de hibridación *in situ* encontramos el ARN mensajero en células situadas en distintas áreas cerebrales, localizadas en los mismos lugares donde la GK fue identificada. Además los estudios de RT-PCR del ARN total procedente de hipotálamo, islotes pancreáticos e hígado, tras el subsiguiente análisis de los productos obtenidos por PCR mediante "Southern blot", mostró la presencia del ARN mensajero de la GKRK en los tres tejidos. La secuenciación del ADN complementario de la GKRK amplificada a partir del hipotálamo de rata y los islotes pancreáticos indicó que uno de los ARN transcritos fue idéntico al ADN complementario clonado a partir del hígado (27). Asimismo hemos identificado otras dos isoformas.

La expresión del gen de la GKRK en el cerebro humano y de rata genera una proteína de 69 kDa, con una característica distribución subcelular. También la presencia de GK y GKRK en fracciones subcelulares similares en hígado y cerebro sugiere que ambas proteínas pueden tener las mismas interacciones en estos órganos.

Por otra parte desarrollamos un diseño experimental para elucidar las interacciones funcionales entre GK y GKRK. Para este propósito utilizamos la proteína glutatión S-transferasa unida a la GK hepática de rata (GST-rGKi), o con la GK de islotes pancreáticos humanos (GST-hGKi). Ambas proteínas se incubaron con extractos hipotalámicos, y entonces las proteínas unidas o no a la GKRK se aislaron con glut-agarosa. Ambos complejos GST-rGKi y GST-hGKi fueron capaces de precipitar a la GKRK de hipotálamo e hígado en presencia de fructosa-6-fosfato, aunque la cantidad de GKRK coprecipitada disminuyó con la presencia de fructosa-1-fosfato, indicando que la GK y la GKRK también interactúan en cerebro y pueden responder a los ésteres de fructosa (27).

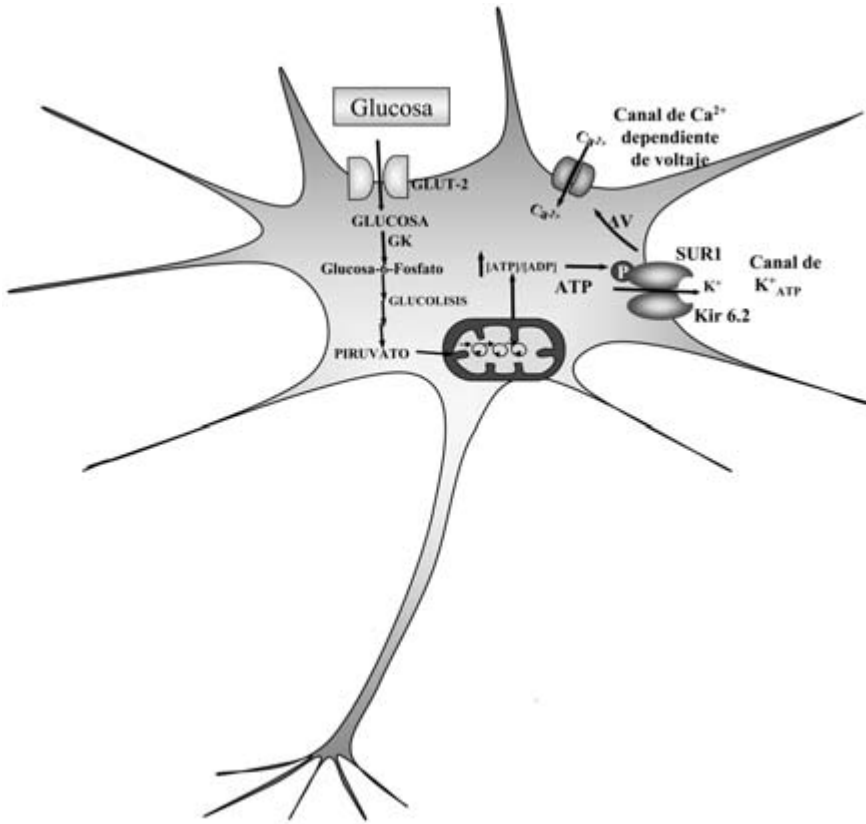


FIGURA 5. Modelo propuesto para el funcionamiento de los canales de potasio y calcio en las neuronas estimuladas por glucosa (GE).

Estos hallazgos ponen de manifiesto las interacciones entre GK y la GKR, y la importancia que pueden tener en los mecanismos implicados en el reconocimiento de la glucosa. La GK cataliza el paso limitante en el catabolismo de la glucosa, y por ello es considerada como el auténtico sensor de glucosa. Esta enzima controla la oxidación de la glucosa y la formación de ATP necesaria para la actividad del canal de K^+_{ATP} en las neuronas (Fig. 5) que tienen GK. Esta también juega un papel regulador como consecuencia de su cooperatividad cinética con la glucosa, la ausencia de inhibición por glucosa-6-fosfato, y su baja afinidad por la glucosa, que asegura que el valor de la fosforilación de la glucosa sea directamente proporcional a los valores circulantes de glucosa y las concentraciones intracelulares de la enzima. En esta dirección tiene una especial relevancia la demostración de que la GK está presente tanto en las neuronas GE

como en las GI, donde puede jugar un papel importante en el reconocimiento de la glucosa.

EFFECTOS DE LAS FLUCTUACIONES DE LA GLUCEMIA SOBRE LOS SISTEMAS SENSORES DE GLUCOSA EN CEREBRO

A pesar de que en condiciones basales la glucemia es de 5 mM, las concentraciones de glucosa encontrada en el fluido intersticial en cerebro son inferiores a 2 mM, lo cual es un reflejo indicativo de cuando los valores circulantes de glucosa oscilan entre 2,5 a 15 mM, las concentraciones cerebrales de glucosa sólo varían entre 0,15 y 4,5 mM. Estos hechos garantizan que las isoformas más abundantes en cerebro del transportador de glucosa GLUT-3, y la enzima fosforilante de glucosa HK-1, sean suficientes para producir la cantidad de ATP necesaria para mantener las funciones celulares bajo condiciones basales, aunque HK-1 esté saturada por debajo de 2mM. Por otra parte las fluctuaciones de la glucemia, desde las concentraciones bajas hasta las más elevadas, necesitan sistemas sensores de glucosa con objeto de obtener una respuesta fisiológica. Nuestros conocimientos actuales indican un papel sobresaliente al sistema nervioso central en la detección de las hipoglucemias, mediante la contribución de glucosensores hipotalámicos presentes en el hipotálamo ventromedial. Este es considerado un centro simpáticomimético con actividades reguladoras sobre la ingesta de alimentos, que cuando es estimulado facilita la liberación de las hormonas contrainsulares, catecolaminas y glucagón, que defienden el organismo de las situaciones de glucopenia.

Además la GK puede reconocer las elevaciones de la glucemia. como por ejemplo después de la ingesta de alimentos, cuando las interacciones de ella con la GGRP pueden facilitar el funcionamiento de los sistemas sensores de glucosa localizados en áreas selectivas del cerebro.

Estudios recientes realizados por nuestro grupo, con la utilización de la tecnología PET, muestran que el GLP-1 cuando administrado mediante perfusión intravenosa en humanos reduce significativamente el metabolismo cerebral de glucosa (Fig. 6) en áreas hipotalámicas y del tronco cerebral (18), implicadas en el control de la ingesta alimentaria. Teniendo en cuenta que para estos estudios utilizamos 18-F-desoxiglucosa, la radiactividad acumulada en las áreas cerebrales citadas sólo pudo almacenarse en forma de desoxiglucosa-6-fosfato, y por tanto sólo pudieron afectarse los sistemas de transporte y fosforilación de glucosa, que en las áreas citadas tienen células con un gran contenido de los

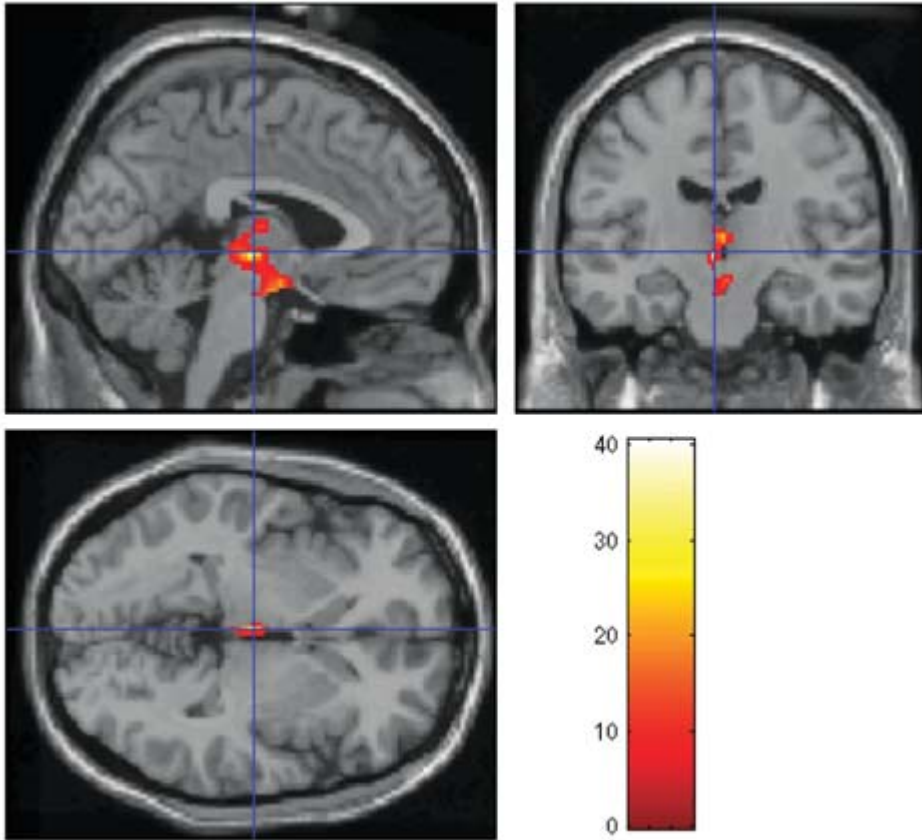


FIGURA 6. Efecto del GLP-1 (7-36) amida sobre el metabolismo cerebral de glucosa evaluado mediante la tomografía de emisión de positrones (PET). Este péptido redujo significativamente el metabolismo de la glucosa en hipotálamo y tronco cerebral comparándolo con los datos obtenidos en sujetos controles sin la administración de GLP-1 (7-36) amida.

componentes del sistema sensor de glucosa, GLUT-2 y GK. Esta constituye una primera aproximación en humanos sobre la acción de un péptido anorexígeno con el sistema sensor de glucosa, que abre nuevas vías para el estudio de otras moléculas anorexígenas y orexígenas en condiciones de normalidad y por extrapolación a otras situaciones patológicas como la anorexia y bulimia nerviosas y la obesidad compulsiva.

En resumen, una amplia red presente en el hipotálamo y el tronco del encéfalo comunican unas con otras para controlar la conducta alimentaria. Subpoblaciones de estas células constituyen circuitos con sustancias orexígenas y anorexígenas.

nas y sus receptores, capaces de generar respuestas integradas frente a diferentes estímulos producidos por modificaciones de distintos metabolitos. Estas respuestas pueden ser facilitadas por la expresión de GLUT-2, GK y GKRP en células hipotalámicas con capacidad sensora de las concentraciones circulantes de glucosa.

AGRADECIMIENTOS

Los estudios que se citan fueron realizados gracias a las ayudas del Fondo de Investigaciones Sanitarias, Ministerio de Ciencia e Investigación, Comunidad de Madrid y el CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), que es una iniciativa del Instituto de Salud Carlos III.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Oomura, Y. y Yoshimatsu, H. (1984) Neural network of glucose monitoring system. *J. Auton. Nerv. System.* 10: 359-72.
- (2) Oomura, Y. Ono, T., Ooyama, H. y Wayner, M.J. (1969) Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus. *Nature* 222: 282-84.
- (3) Leibowitz, S.F. (1992) Neurochemical-neuroendocrine systems in the brain controlling macronutrient intake and metabolism. *Trends Neurs.* 15:491-97.
- (4) Batterham, R.L., Cowley, M., Small, C.J., Herzog, H., Cohen, M.A., *et al.* (2002) Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature* 418: 650-54.
- (5) Schwartz, M.W, Woods, S.C., Porte, D., Seely, R.J. Baslein, D.G. (2000) Central nervous system control of food intake. *Nature* 404: 661-71.
- (6) Navarro, M., Rodríguez-Fonseca, F., Alvarez, E., Chowen, J.A., Zueco, J.A., Gómez, R., Eng, J. y Blázquez, E. (1996) Colocalization of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptors, glucose transporter GLUT-2, and glucokinase mRNAs in rat hypothalamic cells. Evidence for a role of GLP-1 receptor agonists as an inhibitory signal for food and water intake. *J. Neurochem.* 67: 1982-91.
- (7) Turton, M.D., O'Shea, D., Gunn, I., Beak, S.A., Edwards, C.M.B., Meeran, K., Choi, S.J., *et al.* (1996) A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature* 379: 69-72.
- (8) Orskov, C., Poulsen, S.S., Moller, M., y Holst, J.J. (1996) Glucagon-like peptide 1 receptors in the subfornical organ and the area postrema are accessible to circulating glucagon-like peptide 1. *Diabetes* 45: 832-35.

- (9) Alvarez, E., Roncero, I., Chowen, J.A., Thorens, B. y Blázquez, E. (1996) Expression of the glucagon-like peptide-1 receptor gene in the rat brain. *J. Neurochem.* 66: 920-27
- (10) Rodríguez-Fonseca, F., Navarro, M., Alvarez, E., Roncero, I., Chowen, J.A., Eng, J. y Blázquez, E. (2000) Peripheral versus central effects of glucagon-like peptide-1 receptors agonists on satiety and body weight loss in Zucker obese rats. *Metabolism* 49: 709-17.
- (11) Kreymann, B., Williams, G., Gathe, M.A., y Bloom, S.R. (1987) Glucagon-like peptide-1 (7-36): a physiological incretin in man. *Lancet* 2: 1300-04.
- (12) Holst, J.J., Orskov, C. (1994) Glucagon and other proglucagon-derived peptides. En Walsh J.H. y Docray G.J., eds. *Gut peptides: Biochemistry and Physiology*, New York, N.Y., Raven, p. 305.
- (13) Schjöldager, B.T.G., Mortensen, P.E., Christiansen, J., Orskov, C. y Holst, J.J. (1989) GLP-1 (glucagon-like peptide-1) and truncated GLP-1, fragments of human proglucagon, inhibit gastric acid secretion in man. *Dig. Dis. Sci.* 35: 703-08.
- (14) Gutniak, M., Orskov, C., Holst, J.J., Ahrén, B. y Efendic, S. (1992) Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 326: 1316-22.
- (15) Matchinsky, F.M. (1990) Perspectives in diabetes: glucokinase as a glucose sensor and metabolic signal generator in pancreatic β -cells and hepatocytes. *Diabetes* 39: 647-52.
- (16) Burcelin, R., Da Costa, A., Drucker, D., y Thorens, B. (2001) Glucose competence of the hepatoportal vein sensor requires the presence of an activated glucagon-like peptide-1 receptor. *Diabetes* 50: 1720-28.
- (17) Blázquez, E., Alvarez, E., Navarro, M., Roncero, I., Rodríguez-Fonseca, F., Chowen, J.A. y Zueco, J.A. (1998) Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide as a novel neuropeptide. *Mol. Neurobiology* 18: 157-73.
- (18) Roncero, I., Alvarez, E., Chowen, J.A., Sanz, C., Rabano, A., Vázquez, P. y Blázquez, E. (2004) Expression of glucose transporter isoform GLUT-2 and glucokinase genes in human brain. *J. Neurochem.* 88: 1203-10.
- (19) Alvarez, E., Martínez, M.D., Roncero, I., Chowen, J.A., García-Cuartero, B., Gisbert, J.D., *et al.* (2005) The expression of GLP-1 receptor mRNA and protein allows the effect of GLP-1 on glucose metabolism in the human hypothalamus and brainstem. *J. Neurochem.* 92: 798-806.
- (20) Ashford, M.L.J., Borden, P.R. y Treherne, J.M. (1990) Glucose-induced excitation of hypothalamic neurons is mediated by ATP-sensitive K^+ channels. *Pfügers Arch.* 415: 479-83.

- (21) Dunn-Meynell, A.A., Rawson, N.E. y Levin, B.E. (1998) Distribution and phenotype of neurons containing the ATP-sensitive K⁺ channel in rat brain. *Brain Res.* 814: 41-54.
- (22) Yang, X.J., Kow, L.M., Funabashi, T., y Mobbs, C.H. (1999) V. Hypothalamic glucose sensor. Similarities to and differences from pancreatic β -cells mechanisms. *Diabetes* 48: 1767-72.
- (23) Karschin, C., Ecke, C., Ascroft, F.M. y Karschin, A. (1997) Overlapping distribution of K⁺ATP channel-forming unit Kir 6.2 subunit and the sulfonylurea receptor SUR 1 in rodent brain. *FEBS Lett.* 401: 9-64.
- (24) Niini, M., Sato, M., Tamaki, M., Wada, Y., Taksara, J. y Kansaniski, K. (1995) Induction of Fos protein in the rat hypothalamus elicited by insulin-induced hypoglycemia. *Neurosci. Res.* 23: 36164.
- (25) Dunn-Meynell, A.A., Routh, V.H., Kang, L., Gaspess, I. y Levin, L.E. (2002) Glucokinase is the likely mediator of glucose sensing in both glucose-excited and glucose-inhibited central neurons. *Diabetes* 51: 2056- 65.
- (26) Roncero, I., Alvarez, E., Vázquez, P. y Blázquez, E. (2000) Functional glucokinase isoforms are expressed in rat brain. *J. Neurochem.* 74: 1848-57.
- (27) Alvarez, E., Roncero, I., Chowen, J.A., Vázquez, P. y Blázquez, E. (2002) Evidence that glucokinase regulatory protein is expressed and interacts with glucokinase in rat brain. *J. Neurochem.* 80:45-53.