



Nutrición Hospitalaria

ISSN: 0212-1611

info@nutriciónhospitalaria.com

Grupo Aula Médica

España

Martínez-Rodríguez, R.; Gil, A.
Modulación de la expresión de genes de incretinas mediada por nutrientes; revisión sistemática
Nutrición Hospitalaria, vol. 27, núm. 1, enero-febrero, 2012, pp. 46-53
Grupo Aula Médica
Madrid, España

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309226784006>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Revisión

Modulación de la expresión de genes de incretinas mediada por nutrientes; revisión sistemática

R. Martínez-Rodríguez y A. Gil

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Centro de Investigación Biomédica. Universidad de Granada. Granada. España.

Resumen

Las incretinas son una serie de hormonas que tras una ingesta de alimentos son secretadas y liberadas al torrente sanguíneo por células enteroendocrinas del intestino, llegando al páncreas, donde producen un efecto potenciador en la liberación de insulina. El objetivo de este trabajo ha sido realizar una revisión sistemática de la modulación de la expresión génica de las incretinas mediada por nutrientes utilizando ecuaciones específicas de búsqueda en la base de datos PubMed. Las dos incretinas más relevantes son el péptido análogo al glucagón 1 (GLP-1) y el péptido insulínotropo dependiente de glucosa (GIP), que provienen de los precursores proglucagón y proGIP, respectivamente. GLP-1 es mayoritariamente sintetizado y secretado por las células L del íleon y del colon, a diferencia de GIP que lo hace por las células K de duodeno y yeyuno proximal. Se ha demostrado que la ruta canónica de señalización Wnt está estrechamente relacionada con la producción de estas hormonas, ya que el factor de transcripción TCF7L2 influye en la expresión génica de proglucagón y proGIP en células enteroendocrinas L y K. Por otra parte, se ha demostrado que la ruta biosintética de las hexosaminas es capaz de glicosilar la β -catenina, componente fundamental de la señalización canónica Wnt, lo que interfiere en la fosforilación de esta proteína, impidiendo así su degradación en el proteasoma. El aumento de la concentración de glucosa incrementa la ruta de las hexosaminas y de esta manera la glicosilación de la β -catenina. Esto produce una acumulación de esta proteína en el citoplasma celular y permite su entrada al núcleo, donde ejerce su acción al unirse a una serie de moléculas y factores de transcripción, permitiendo de este modo que se expresen los genes diana, entre los que se encuentran los de las hormonas incretinas. También hay evidencias de que la glucosa, a través de la ruta de las hexosaminas, es capaz de inducir la activación autocrina de la ruta de señalización Wnt estimulando la secreción de proteínas Wnt.

(*Nutr Hosp.* 2011;27:46-53)

DOI:10.3305/nh.2012.27.1.5437

Palabras clave: *Incretinas. Regulación de la expresión génica. Proteínas Wnt. Glicosilación.*

GENE EXPRESSION MODULATION OF INCRETINS MEDIATED BY NUTRIENTS; A SYSTEMATIC REVIEW

Abstract

Incretins are a cluster of hormones which are secreted and released into the bloodstream after food intake by gut enteroendocrine cells, reaching to pancreas where produce a potentiating effect on insulin release. The aim of this study was to perform a systematic review of incretins gene expression mediated by nutrients using specific search equations in the PubMed database. The two most relevant incretins are GLP-1 and GIP, which come from proglucagon and proGIP precursor respectively. GLP-1 is mainly synthesized and released by ileum and colon L cells, in contrast to GIP which does it by K cells in duodenum and proximal jejunum. It has been shown that canonical Wnt signalling pathway is closely related to the production of these hormones, since transcription factor TCF7L2 affects proglucagon and proGIP gene expression in L and K enteroendocrine cells. On the other hand, it has been shown that the hexosamine biosynthetic pathway can produce N-linked glycosylation of β -catenin, an essential component of canonical Wnt signalling. This process hinders β -catenin phosphorylation and, thereby prevents proteasome degradation. Increasing glucose concentration enhances the hexosamine pathway and thus β -catenin glycosylation. This causes a β -catenin cytoplasmic accumulation allowing entry into nucleus, where it exerts its action by binding to a clump of molecules and transcription factors, allowing to express the target genes, including the incretin hormones. There is also evidence that glucose, through the hexosamine pathway, can induce autocrine activation of Wnt signalling pathway by stimulating secretion of Wnt proteins.

(*Nutr Hosp.* 2012;27:46-53)

DOI:10.3305/nh.2012.27.1.5437

Key words: *Incretins. Gene expression regulation. Wnt proteins. Glycosylation.*

Correspondencia: Ángel Gil.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II.
Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos.
Centro de Investigación Biomédica.
Universidad de Granada. Campus de la Salud.
Avda. del Conocimiento, s/n.
18100 Armilla. Granada. España.
E-mail: agil@ugr.es

Recibido: 3-VIII-2011.

Aceptado: 8-VIII-2011.

Abreviaturas

APC: Adenomatous polyposis coli.
β-Trcp: Proteína que contiene repeticiones de transducina β.
CBP: Proteína de unión a CREB.
CK1: Caseína quinasa 1.
DPP IV: Dipeptidil peptidasa IV.
GFAT: Glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa.
GIP: Péptido insulínico dependiente de glucosa.
GLP-1: Péptido análogo al glucagón 1.
GPR: Receptor acoplado a proteína G.
GSK3: Glucógeno sintasa quinasa 3.
HAT: Histona-acetiltransferasa.
HBP: Ruta biosintética de las hexosaminas.
HMT: Histona-metiltransferasa.
LEF: Factor potenciador linfocitario.
LRP: Proteína relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad.
OGA: N-acetil O-glucosaminasa.
OGT: O-GlcNAc transferasa.
PC: Prohormona convertasa.
PPAR: Receptor activado por proliferador peroxisomal.
TCF: Factor de células T.
WRE: Elemento de respuesta a Wnt.

Introducción

El término incretina hace referencia al efecto de la liberación de insulina producido en respuesta a la ingesta de alimentos. Las incretinas son una serie de hormonas que incrementan de forma directa o indirecta esa secreción de insulina en las células de los islotes de Langerhans pancreáticos^{1,2}. En el organismo hay varias hormonas que producen este efecto de una forma indirecta³⁻⁷ (tabla I), pero que lo hagan directamente, actualmente sólo se conocen dos, lo que las convierte en las más importantes. Se trata del péptido insulínico dependiente de glucosa o GIP (anteriormente conocido como péptido inhibidor gástrico, *gastric inhibitory peptide*) y del péptido análogo al glucagón 1 o GLP-1 (*glucagon like peptide*)⁸. Pero la acción de estas hormonas no sólo se ciñe al páncreas y la liberación de la insulina, sino que juegan otros papeles en el organismo. GLP-1 suprime la secreción de glucagón, inhibe el vaciamiento gástrico y reduce el apetito y la ingesta de alimento⁹. También parece que mejora y aumenta la proliferación de células pancreáticas, protege a los miocitos del daño isquémico, regula la homeostasis de glucosa y tiene una función neuroprotectora¹⁰. Por otra parte, GIP puede que tenga una relación directa con la obesidad y el metabolismo lipídico^{10,11}, la remodelación ósea y, en el sistema nervioso central, un papel regulador en la proliferación de células progenitoras neurales y modificación del comportamiento¹⁰.

Tabla I
Hormonas con efecto incretina

Efecto directo	Efecto indirecto
GIP	Colecistoquinina Gastrina Ghrelin
GLP-1	Neurotensina Péptido PHI Péptido YY

Un estudio reciente en ratas, añade una posible relación entre GIP y la aclimatación al frío¹².

Las hormonas incretinas GIP y GLP-1 pertenecen a una superfamilia de péptidos glucagón y, por tanto, existe homología en la secuencia de aminoácidos entre ellos. GIP es un péptido de 42 aminoácidos que deriva de su precursor, ProGIP, mientras que GLP-1 lo hace del precursor proglucagón e incluye péptidos de 30 y 31 aminoácidos. El “efecto incretina” ha sido estudiado con la glucosa y se ha visto que cuando es ingerida por vía oral produce una respuesta insulínica mucho mayor que si se administrase por vía intravenosa, lo que indica que la secreción de GIP y GLP-1 se realiza en el tracto digestivo¹³ y, efectivamente, está mediada por dos tipos de células enteroendocrinas del epitelio gastrointestinal. Las células K, ubicadas principalmente en duodeno y yeyuno proximal, son las encargadas de segregar GIP. Las células L, que se encuentran en su mayoría en el íleon y colon, sintetizan y segregan GLP-1¹⁴. También se sabe que una pequeña cantidad de células del intestino delgado proximal, expresa tanto GLP-1 como GIP¹⁵. Se estima que la vía indirecta de las incretinas es la base de hasta un 70% de la secreción de insulina estimulada por glucosa en individuos sanos¹⁴. A nivel de la célula β pancreática, GIP y GLP-1 llegan a la circulación después de que la ingesta de alimentos proporcione una señal de cambio en la concentración de glucosa que amplifica la respuesta secretora, aumentando así la liberación de insulina en condiciones en las que más se necesita¹³. Estos efectos sobre la liberación final de insulina y la mejora de la homeostasis de glucosa, han generado una serie de expectativas sobre estas hormonas en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 y ha llevado al desarrollo de varias terapias basadas, principalmente en GLP-1.

El hecho de que estas hormonas se liberen cuando los alimentos llegan al sistema digestivo y la capacidad que se ha observado que tienen algunos nutrientes para potenciar o disminuir esta liberación¹⁶⁻¹⁸, hace pensar que exista también un sistema que regule su producción. Este es un tema que está poco estudiado y por lo tanto, la modulación de la expresión génica de incretinas mediada por nutrientes es, aún, una hipótesis. El objetivo de este trabajo es encontrar, mediante una revisión sistemática de la bibliografía disponible hasta la fecha, un mecanismo de regulación de la expresión

de genes de incretinas que esté influenciado por algún nutriente y dé una posible explicación a esta hipótesis.

Metodología

El trabajo se comenzó llevando a cabo una búsqueda de revisiones bibliográficas que permitieran abordar el tema desde una perspectiva amplia. La base de datos consultada para ello fue la que proporciona el recurso PubMed, del National Center for Biotechnology Information (NCBI) de los Estados Unidos. La primera ecuación de búsqueda utilizada fue la siguiente: (“*Gene Expression Profiling*” [Mesh] OR “*Gene Expression*” [Mesh] OR “*Gene Expression Regulation, Developmental*” [Mesh] OR “*Gene Expression Regulation*” [Mesh]) AND “*Incretins*” [Mesh]. Esta primera consulta dio como resultado 9 artículos de los cuales 3 eran revisiones. Tras revisar los abstract de cada uno, se decidió completar la lectura de uno de ellos¹³.

Una vez establecidas las bases del conocimiento sobre incretinas, se desarrolló una búsqueda de artículos originales que dieran solución a la hipótesis de partida. Para ello se empleó la siguiente ecuación: (((“*Incretins/agonists*” [Mesh] OR “*Incretins/analogs and derivatives*” [Mesh] OR “*Incretins/biosynthesis*” [Mesh] OR “*Incretins/genetics*” [Mesh] OR “*Incretins/metabolism*” [Mesh] OR “*Incretins/physiology*” [Mesh] OR “*Incretins/secretion*” [Mesh] OR “*Incretins/therapeutic use*” [Mesh])) AND “*Gene Expression Regulation*” [Mesh]) NOT Review. Con ella se obtuvieron 6 resultados, de los cuales, tan sólo uno³⁴ dio una clave muy buena e importante para este trabajo de la regulación de la expresión génica en la síntesis de incretinas. Utilizando una ruta alternativa ((“*Incretins/biosynthesis*” [Mesh] OR “*Incretins/genetics*” [Mesh] OR “*Incretins/metabolism*” [Mesh]) NOT (“*review*” [Publication Type] OR “*review literature as topic*” [MeSH Terms] OR “*review*” [All Fields]) AND (“*2006/04/01*” [PDat]: “*2011/03/30*” [PDat]) AND (“*humans*” [MeSH Terms] AND “*2006/04/01*” [PDat]: “*2011/03/30*” [PDat])) se encontró una lista de 65 artículos entre los que fueron seleccionados varios no muy relevantes, pero que, tras su lectura, permitieran llegar a algún otro artículo de mayor interés. Con la ecuación “*Gene expression*” AND “*Incretins*” AND “*nutrient*” tampoco se logró ningún resultado concluyente, por lo que se llegó a la conclusión de que no existía ningún trabajo que hubiese estudiado lo que se estaba buscando.

Debido a la inexistencia de trabajos para la regulación génica mediada por nutrientes, la búsqueda se centró en la síntesis de incretinas ((“*Incretins/biosynthesis*” [Mesh]) NOT Review). Ya que varios artículos hacían referencia a la señalización Wnt como regulador de la síntesis de incretinas, se empezó a buscar una relación entre nutrientes y la ruta de señalización Wnt por medio de la ecuación “*Wnt Proteins*” [Mesh] AND “*Nutrients*” y de esta manera fue como se encontró un comentario del Biochemical Journal que se referen-

ciaba en un trabajo original que estudiaba justo lo que se estaba buscando³⁹.

El resto de trabajos consultados fueron tomados de las propias referencias que hacía cada trabajo en su bibliografía y también de consultas en diferentes recursos webs.

Mecanismos moleculares de secreción y regulación de la síntesis de incretinas

Las células L enteroendocrinas que sintetizan y liberan GLP-1 se encuentran dispersas por todo el intestino delgado y grueso, con mayor densidad en el íleon distal y el colon. GIP, por el contrario, es producido por un tipo de células anatómicamente distintas, conocidas como células K, que están, en su mayoría, ubicadas en el duodeno. Tal vez debido a eso, las concentraciones circulantes de GLP-1 y GIP presentan perfiles distintos después de la ingesta de alimentos. Dependiendo de la composición de la comida, la secreción de GLP-1 pueden presentar un perfil bifásico, con una fase temprana poco después de la ingesta de alimentos y con una duración de 15-30 min, y una fase tardía que persiste durante 1-2 horas o más. La secreción de GIP se produce con un retraso corto de tiempo similar y también pueden permanecer elevada durante varias horas. En humanos, la glucosa puede ser detectada en el duodeno proximal dentro de los 5 minutos tras la ingesta de una sobrecarga de glucosa líquida, correlacionándose con el tiempo necesario para ver la primera elevación rápida de la concentración de GLP-1 y GIP en sangre¹³. Por tanto, existen mecanismos de detección de nutrientes en estas células que permiten la pronta liberación de hormonas y posiblemente, la síntesis de las mismas.

Secreción de incretinas

La liberación de GIP se realiza rápidamente por la llegada de nutrientes en el duodeno, gracias a su alta densidad local de células K, sin embargo, estudios con infusión de glucosa en humanos mostraron que la secreción de GLP-1 es estimulada sólo cuando la tasa de entrada de glucosa en el duodeno excede la capacidad de absorción duodenal, es decir, cuando la glucosa no absorbida se filtra hasta el yeyuno y estimula potencialmente a las células L en esa región¹⁹. Pero la secreción no sólo se produce por ingesta de hidratos de carbono, sino que los otros dos macronutrientes, lípidos y proteínas, también la estimulan²⁰⁻²³. Tras la secreción tanto de GLP-1 como de GIP, se produce una rápida degradación de las hormonas, provocada por la enzima dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV)^{24,25}.

Existen varios receptores con siete dominios transmembrana muy ubicuos que son ampliamente activados por aminoácidos, hidratos de carbono o ácidos grasos libres y que se expresan en varios tejidos, entre los que está el tracto gastrointestinal. Esto ha llevado a la

hipótesis de que estos receptores pueden actuar como sensores de modulación de la ingesta de alimentos, por ejemplo, la liberación de las hormonas incretinas en el intestino²⁶. Los receptores acoplados a proteína G (GPRs), son proteínas integrales de membrana con siete hélices α . Los propios receptores de GIP y GLP-1 pertenecen a este grupo^{27,28}, pero en las células enteroendocrinas, se expresan varios tipos de GPRs, acoplados a G_s y G_q , que inducen la secreción de incretinas. Estos receptores actúan induciendo rutas de señalización, como AMPc y PKC (proteína quinasa C) el aumento de la concentración de calcio en la célula por medio de canales de calcio, lo que provoca la liberación de incretinas¹³.

Producción de incretinas

Procesamiento de la hormona

GLP-1 se escinde tras la traducción a partir del producto del gen proglucagón, que no sólo se expresa en las células L, sino también en las células del páncreas y un subconjunto de neuronas del tallo cerebral. El procesamiento alternativo de la prohormona es atribuible en gran medida a la expresión diferencial de las enzimas prohormona convertasas (PC). Mientras que las células pancreáticas expresan PC2 y generan el glucagón, las células L en el intestino expresan PC1/3 y producen los péptidos bioactivos GLP-1, GLP-2 y oxintomodulina. La fracción carboxilo terminal de proglucagón se procesa casi en su totalidad a GLP-1 y GLP-2 en células L, la región N-terminal es liberada como péptido activo oxintomodulina y el resto en forma de glicentina^{14,29,30}. Los análisis de expresión de genes en células L GLU-Tag, un modelo experimental, muestra que los niveles de RNAm de proglucagón y PC1/3 aumentan significativamente tras la incubación con glucosa, comparado con lactato. Por el contrario, el RNAm de PC2 no es regulado por glucosa tras 12 h de incubación, mientras que tanto glucosa como lactato tienden a incrementar su expresión tras 24 h. Los datos de este estudio muestran que la glucosa no sólo es un estímulo primario de liberación de GLP-1, sino también un modulador transcripcional positivo de niveles de RNAm de proglucagón y PC-1/3 en células L GLUtag³¹.

A diferencia de proglucagón, el precursor proGIP en las células K no se cree que contenga secuencias de péptidos bioactivos además de la de GIP. El procesamiento de proGIP en las células K, como el de proglucagón en células L, se atribuye a la acción de PC1/3³⁰.

Regulación de la síntesis

Existen varios trabajos que sostienen que la expresión de los genes de incretinas está regulada, principalmente, por la ruta de señalización Wnt, ya que un miembro de esta ruta, el factor de transcripción TCF7L2 o TCF-4

(factor de transcripción de células T, no confundir con el factor de transcripción 4), ha demostrado influir en la expresión génica intestinal tanto de proglucagón como de proGIP en células enteroendocrinas³²⁻³⁵. Además, el propio GLP-1 estimula de forma autocrina la ruta Wnt y ninguno de estos efectos han sido descritos en las células de los islotes pancreáticos¹⁴.

RUTA DE SEÑALIZACIÓN WNT

La señalización Wnt es un proceso extremadamente complejo que ha de ser cuidadosamente controlado, tanto temporal como espacialmente. Es de fundamental importancia para la diferenciación celular, comunicación célula-célula, formación y crecimiento de órganos. Las proteínas Wnt son ligandos glicoprotéicos secretados por células. Contienen un dominio conservado de aproximadamente 300 aminoácidos y está interrumpido por una secuencia de 21 a 23 residuos de cisteína que tienen un patrón espacial característico. Son poco solubles en agua debido a una cadena lipídica (palmitoil) ligada a un residuo conservado de cisteína. Muchas células, particularmente indiferenciadas o inflamatorias, secretan proteínas Wnt, pero otras también lo hacen en respuesta a estímulos. Las Wnt tienen un efecto dependiente de concentración, son transportadas a través de largas distancias y pueden actuar en células situadas lejos de donde fueron producidas. La activación Wnt se logra tanto por señalización paracrina como autocrina³⁶. Existen dos tipos de señalización Wnt, pero la importante para este trabajo es la ruta canónica de señalización.

La ruta canónica de señalización Wnt (fig. 1) ha sido bien definida por McDonald, Tamai y He³⁷. Funciona mediante la regulación del coactivador transcripcional β -catenina. En ausencia de Wnt, la β -catenina plasmática es constantemente degradada por la acción del complejo Axina, que está compuesto por la proteína de andamio axina, el supresor tumoral APC (*adenomatous polyposis coli*), la caseína quinasa 1 (CK1) y la glucógeno-sintasa quinasa 3 (GSK3). CK1 y GSK3 fosforilan secuencialmente la región amino terminal de la β -catenina, lo cual provoca el reconocimiento por parte de β -Trcp, una subunidad ligasa de la ubiquitina E3, y su consecuente ubiquitinación y degradación en el proteasoma. Esta continua eliminación de β -catenina previene su entrada en el núcleo y los genes diana de la ruta Wnt se mantienen, por tanto, reprimidos por la familia de proteínas del factor de células T ligado a DNA/factor potenciador linfóide (TCF/LEF). La ruta de señalización Wnt/ β -catenina se activa cuando un ligando se une al receptor transmembrana Frizzled (Fz) y a su correceptor, la proteína relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad 6 ó 5 (LRP6/5). La formación del complejo Wnt-Fz-LRP6/5 junto con el reclutamiento de la proteína andamio Dishevelled (Dvl) da como resultado la fosforilación y activación del LRP y el anclaje del complejo axina a los recepto-

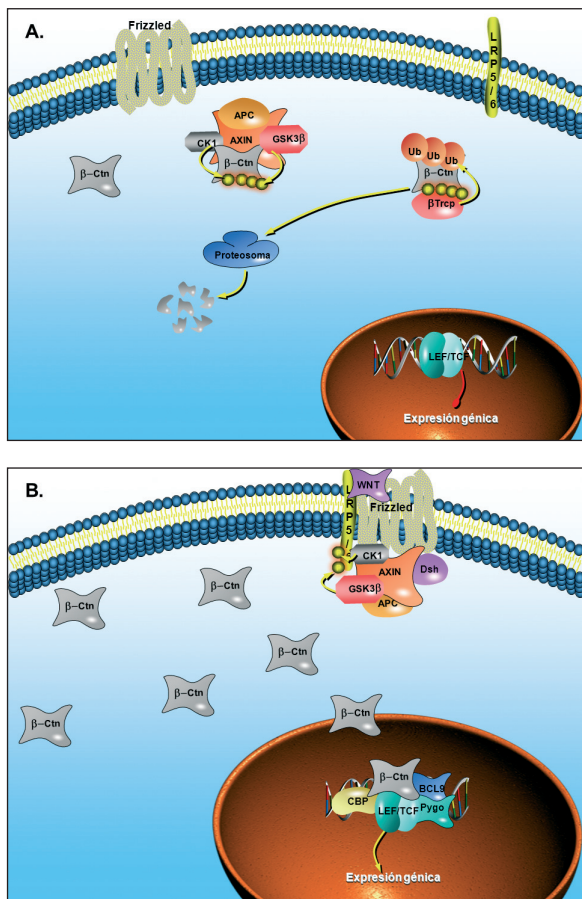


Fig. 1.—Representación simple de la ruta de señalización Wnt. El cuadro A simboliza la inactivación de la ruta mediante la fosforilación de β -catenina y su posterior degradación en el proteosoma. B representa la ruta activada, con la entrada de β -catenina al núcleo.

res. Este evento permite la inhibición de la fosforilación de β -catenina mediada por el complejo Axina y de esta manera, la estabilización de β -catenina, que se acumula en el citoplasma y puede viajar hasta el núcleo para formar complejos con TCF/LEF y activar la expresión génica diana de Wnt³⁷, que en células enteroendocrinas L y K conduce a la síntesis de GLP-1 y GIP respectivamente.

En 2008, Anagnostou y Shepherd publicaron un trabajo en el que se identificó una importante unión entre la detección de glucosa y la ruta de señalización Wnt/ β -catenina³⁸. Sus datos indican que la ruta de señalización Wnt responde a la concentración fisiológica de nutrientes. Uno de los primeros resultados obtenidos sugiere que la glucosa regula los niveles de β -catenina. En este estudio, se utilizaron líneas celulares de macrófagos (J774.2 y RAW264.7) porque habían demostrado previamente que tenían respuesta a glucosa. Además se ha visto que la β -catenina, en estas células, representa un pool citosólico y nuclear de β -catenina que está implicado en la transducción de señales Wnt y la activación transcripcional dependiente de TCF. En este estudio, las líneas celulares se mantuvieron durante un período

de inanición de glucosa. La restauración de los niveles de glucosa, dio como resultado un aumento rápido en los niveles de β -catenina dependiente de la dosis en ambas líneas celulares. Los cambios en los niveles de β -catenina se observaron entre 5 mM y 20 mM de glucosa, indicando que el efecto puede ocurrir dentro del rango fisiológico de concentraciones de glucosa³⁸.

RUTA DE LAS HEXOSAMINAS

En el trabajo realizado por Anagnostou y su colega Shepherd se dieron evidencias de que la ruta de las hexosaminas está implicada en la regulación de los niveles de β -catenina por varios motivos. El primero de ellos es que los efectos descritos anteriormente eran bloqueados por fármacos inhibidores de GFAT (glutamina:fructosa-6-fosfato amidotransferasa). Además se sabe que GFAT requiere glutamina como donador del grupo amino y el efecto de la glucosa desaparecía cuando no estaba presente la glutamina. La última evidencia de la influencia de la ruta de las hexosaminas fue que los efectos de la glucosa podían ser replicados administrando bajos niveles de glucosamina (GlcN), que puede entrar directamente en la ruta de las hexosaminas corriente abajo de GFAT³⁸.

La ruta biosintética de las hexosaminas (HBP, *Hexosamine Biosynthetic Pathway*) resulta en la producción de UDP-N-acetilglucosamina (UDP-GlcNAc) y otros nucleótidos hexosaminas. UDP-GlcNAc es el producto principal y el donante único para la O-unión de una sola molécula de N-acetilglucosamina (O-GlcNAc) a muchas proteínas citoplasmáticas y nucleares. Al entrar en la célula la glucosa es rápidamente fosforilada a glucosa-6-fosfato, que puede ser oxidada a través de la glucólisis o derivar a las pentosas fosfato o ser almacenada como glucógeno. En la glucólisis, la G6P se isomeriza a fructosa-6-fosfato (F6P) antes de que actúe la ruta. Aproximadamente el 2,5% de la F6P, y por esta razón de la glucosa, se desvía a la HBP. Como se ha comentado antes, GFAT cataliza la formación de glucosamina-6-fosfato, con la glutamina como donante de amina y la F6P como sustrato aceptor en el primer paso y limitante de la ruta. Posteriormente, la adición de un grupo acetyl produce N-acetilglucosamina-6-fosfato, que es rápidamente modificado a UDP-GlcNAc. La utilización de glucosamina y de acetyl en los primeros dos pasos une potencialmente el metabolismo de aminoácidos y de ácidos grasos con HBP³⁹.

La modificación reversible de las proteínas mediante adición y eliminación de GlcNAc, análoga a la adición y eliminación de fosfato, también tiene una compleja interacción con la modificación O-fosfato. Los sitios diana de la N-acetil-O-glicosilación están en los propios sitios de O-fosforilación o muy próximos a ellos. El ciclo de la GlcNAc se completa gracias a dos enzimas. Una de ellas es la OGT (O-GlcNAc transferasa), que cataliza la O-unión de GlcNAc con los residuos de

serina y treonina de la proteína diana. La otra es la OGA (O-GlcNacasa), que elimina la fracción hexosamina³⁹.

Debido a la amplia funcionalidad de las proteínas diana, la vía de las hexosaminas también se conoce como “ruta de señalización hexosamina”. El producto final UDP-GlcNAc, es un potente inhibidor de la GFAT y también modula la afinidad de OGT para sustratos individuales³⁹.

En el estudio de Anagnostou y Shepherd³⁸, se utilizó tunicamicina y 2DOG (2-deoxi-D-glucosa), inhibidores de la N-glicosilación y se demostró que esta glicosilación es la responsable del efecto de la glucosa en β -catenina pero el mecanismo por el cual se produce este efecto aún no está resuelto. En un primer momento se pensó que podía deberse a un aumento en la síntesis de cateninas, pero esta idea quedó anulada tras comprobarse que los niveles de RNAm de β -catenina no estaban afectados ni por glucosa ni por glucosamina o por ausencia de glutamina, así que es necesario buscar otra explicación³⁹.

RELACIÓN ENTRE WNT Y HEXOSAMINAS

La fosforilación de β -catenina por GSK3 es un paso esencial en su marcaje para la degradación en el proteasoma, como ya se ha comentado. En un principio se pensó que bajos niveles de actividad de GSK3 podrían explicar el aumento de β -catenina, pero se vio que no era así. Sin embargo, se encontró que la relación de β -catenina total fosforilada disminuía con el tratamiento de glucosa o glucosamina, indicando que está ocurriendo menos fosforilación mediada por GSK3, estabilizándose así la β -catenina³⁸. La explicación que se le puede dar a esto, teniendo en cuenta los resultados de este trabajo y la fisiología de la ruta de las hexosaminas está representada en la figura 2. La glucosa afecta a la señalización Wnt de manera que la N-acetil-O-glicosilación de β -catenina obstaculiza la O-fosforilación mediada por GSK3, debido a una simple cuestión estructural, y esto conduce a un cambio conformacional que le permite evadir al complejo de destrucción y su posterior degradación en el proteasoma. De esta manera, empieza a aumentar la concentración de β -catenina en el citoplasma.

Además de estos efectos de la glucosa sobre β -catenina, también se ha visto que induce una activación autocrina de la ruta de señalización canónica Wnt. La glucosa podría estar estimulando la secreción de proteínas Wnt, ya que se sabe que la secreción de algunas Wnts requiere N-glicosilación y se ha visto regulación autocrina de la señalización Wnt. Otra hipótesis es que la glucosa podría estar regulando la N-glicosilación de las proteínas Fz o sus correceptores (LRP5/6). Esto podría estar alterando la señalización Wnt ya que se sabe que algunos receptores están regulados funcionalmente por N-glicosilación. Por ejemplo, hay evidencias de que LRP6 es N-glicosilado y esto afecta a la

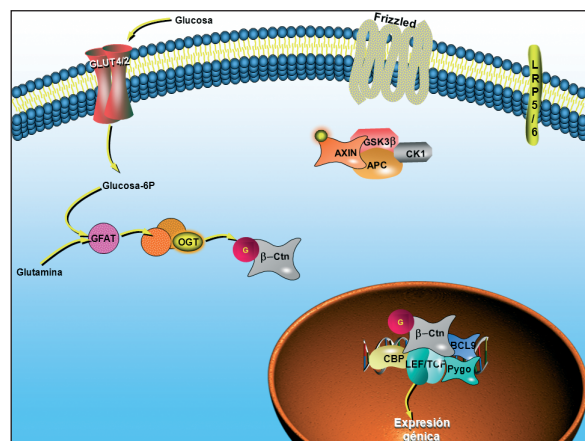


Fig. 2.—Representación simplificada de la relación entre la ruta biosintética de las hexosaminas y la ruta canónica de señalización Wnt.

capacidad de localización y señalización de este receptor. Para probar que, por cualquiera de estas hipótesis, se requería señalización extracelular de Wnt para el efecto de glucosa en β -catenina, Anagnostou y Shepherd, en primer lugar utilizaron Dkk1, que bloquea la interacción entre Wnt y el complejo Frizzled-LRP y, en segundo lugar, sFRP2, que también bloquea la señalización Wnt. En ambos casos se vio que el efecto de la glucosa sobre β -catenina no se producía, con lo que la ruta de señalización de Wnt, podría estar implicada en este efecto. Después de esto, los investigadores realizaron pruebas con un medio que contenía Wnt3a y tucamicina (que bloquea la fosforilación de LRP6) y se demostró que el aumento en β -catenina inducido por glucosa se presenta debido a una activación autocrina del sistema de señalización Wnt y que esto implica a la ruta de las hexosaminas y la N-glicosilación de proteínas³⁸.

Regulación de la expresión génica

La familia de factores de transcripción unidos a DNA TCF/LEF son el acompañante principal de β -catenina en la regulación génica. TCF reprime la expresión génica interactuando con el represor Groucho (llamado TLE1 en humanos), que promueve la desacetilación de histonas y la compactación de la cromatina. La estabilización de β -catenina inducida por Wnt y su acumulación en el núcleo conducen a TCF a acomplejarse con β -catenina, lo cual desplaza a Groucho y se une a otros coactivadores para la activación de genes. Las proteínas TCF son factores HMG (*high mobility group*) de unión al DNA y además de unirse a una secuencia consenso de ADN denominada elemento de respuesta a Wnt (WRE), CCTTTGWW (representando W tanto T como A), causan una flexión importante del DNA que puede alterar la estructura local de la cromatina. TCF7L2 actúa tanto como represor como activador³⁷.

Se han identificado gran cantidad de coactivadores asociados a β -catenina. Este complejo multiproteico

incluye BCL9 y Pygopus (Pygo), un mediador (para la iniciación de la transcripción), p300/CBP e histona-acetiltransferasas (HATs) TRRAP/TIP60, histona-metiltransferasas (HMTs) MLL1/2, la familia SWI/SNF de ATPasas para la remodelación de cromatina y el complejo PAF1 para la elongación de la transcripción y modificación de histonas. Estructuralmente, la β -catenina está formada por tres dominios, el amino terminal, el central y el carboxilo terminal. El dominio central está formado por doce repeticiones de tipo "armadillo". Mientras que las repeticiones centrales de β -catenina se asocian con TCF y la repetición armadillo amino terminal se une a BCL9, la mayoría de los complejos coactivadores interactúan con la porción carboxilo terminal de la β -catenina, creando una interacción entre β -catenina, el aparato transcripcional y la cromatina³⁷. Desde la repetición armadillo 10 al extremo carboxilo (COOH) terminal de β -catenina interacciona con el dominio de unión a CREB de CBP (CREB binding protein) para unirse a ella. CBP actúa como coactivador de β -catenina y juntos, activan la transcripción⁴⁰. De hecho, la unión TCF/ β -catenina a WREs conduce a una acetilación de histonas dependiente de CBP a una distancia genómica significativa (30 kb), lo que sugiere que el reclutamiento local de TCF/ β -catenina da como resultado una modificación generalizada de la cromatina³⁷.

Un estudio reciente, relaciona, también, al receptor activado por proliferadores de los peroxisomas β/δ (PPAR β/δ) con la ruta Wnt³¹. En él se vio que PPAR β/δ regula transcripcionalmente la expresión de proglucagón en células L enteroendocrinas a través de la estimulación de la ruta β -catenina/TCF-4. La conclusión de este estudio identifica un papel para PPAR β/δ como regulador positivo de la señalización de GLP-1 por incremento tanto de la expresión génica de proglucagón como del receptor de GLP-1 en células L enteroendocrinas productoras de GLP-1 y páncreas, respectivamente³¹.

Pero la cuestión realmente importante es si el incremento de β -catenina inducido por glucosa tiene consecuencias funcionales para la expresión génica. El trabajo de Anagnostou y Shepherd³⁸ lo confirma. Estos investigadores llevaron a cabo unos experimentos que mostraron un aumento de β -catenina en el núcleo de las células utilizadas. También demostraron que la glucosa aumenta la actividad transcripcional del sistema β -catenina/TCF, ya que tras adicionarla, se expresan una serie de genes blanco de β -catenina. Estos resultados demuestran claramente que la glucosa, a través de la ruta de las hexosaminas y la N-glicosilación, incrementa los niveles de β -catenina funcional, que se acumula en el núcleo y se une a los miembros de la familia TCF/LEF para activar la transcripción de genes diana³⁸, entre los que se encuentran, en células enteroendocrinas L y K, los genes de GLP-1 y GIP.

Estos resultados también pueden darse *in vivo*, ya que estos investigadores han encontrado que los niveles de β -catenina incrementan rápidamente de 2 a 3 veces en distintos órganos (hígado, músculo y tejido

adiposo) tras la realimentación de ratas en ayunas y también en hígado de ratas insulino-pénicas e hiperglucémicas con diabetes inducida por estreptozotocina³⁸. Esto indica que los cambios en β -catenina ocurren en tejidos implicados en la regulación del metabolismo de glucosa bajo condiciones fisiológicas relevantes y que estos efectos también son debidos a cambios en la glucosa *in vivo*, lo que permite hipotetizar sobre la presencia de esta regulación en células enteroendocrinas L y K, productoras de las hormonas incretinas.

Conclusión

La ruta de señalización Wnt es la responsable de la regulación de la expresión génica de distintas proteínas implicadas en innumerables procesos metabólicos. Se sabe que la síntesis de proglucagón y por lo tanto de GLP-1 y también de GIP está controlada por el sistema represor TCF/LEF, sobre el que actúa β -catenina, en las células enteroendocrinas K y L. La evidencia de que la glucosa puede ejercer efectos directos sobre la ruta de señalización Wnt/ β -catenina establece así una unión entre los nutrientes y las redes de señalización, que son capaces de coordinar y regular distintas respuestas metabólicas. De este modo, la comprensión del proceso puede mejorar el conocimiento sobre el metabolismo de la insulina y la homeostasis de la glucosa. Además, es bastante probable que otros nutrientes estén implicados en la modulación de la expresión génica de las hormonas incretinas, por lo que se hace necesario un estudio dedicado a ello.

Perspectivas

Este trabajo intenta establecer las bases de una posible futura línea de investigación que confirme lo aquí teorizado sobre las células enteroendocrinas K y L del intestino en humanos y la producción de las hormonas incretinas GIP y GLP-1. Estas observaciones, junto con otras evidencias disponibles, identifican la señalización Wnt/ β -catenina como un área terapéutica, principalmente para la obesidad, la diabetes y otras enfermedades metabólicas asociadas. De hecho, hoy en día existen tratamientos para la diabetes en los que se utilizan estas hormonas como fármacos. El mejor entendimiento de los procesos de producción de incretinas, y su modulación por los nutrientes y otros componentes de la dieta puede ayudar a mejorar el tratamiento o a encontrar alguno alternativo.

Referencias

1. McIntyre N, Holdsworth CD, Turner DS. New interpretation of oral glucose tolerance. *Lancet* 1964; 2 (7349): 20-1.
2. McIntyre N, Holdsworth CD, Turner DS. Intestinal factors in the control of insulin secretion. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1965; 25 (10): 1317-24.

3. Van der Burg MP, Guicherit OR, Frölich M, Gooszen HG. Insulinotropic effects of cholecystokinin, gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1 during perfusion of short-term cultured canine isolated islets. *Regulatory Peptides* 1995; 60 (1): 61-7.
4. Kelly KR, Brooks LM, Solomon TP, Kashyap SR, O'Leary VB, Kirwan JP. The glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucose-stimulated insulin response to exercise training and diet in obesity. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 2009; 296 (6): E1269-74.
5. Rehfeld JF. Incretin physiology beyond glucagon-like peptide 1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide: cholecystokinin and gastrin peptides. *Acta Physiologica (Oxford, England)* 2011; 201 (4): 405-11.
6. Cui C, Ohnuma H, Daimon M, Susa S, Yamaguchi H, Kameda W, Jimbu Y, Oizumi T, Kato T. Ghrelin infused into the portal vein inhibits glucose-stimulated insulin secretion in Wistar rats. *Peptides* 2008; 29 (7): 1241-6.
7. Shuster LT, Go VL, Rizza RA, O'Brien PC, Service FJ. Potential incretins. *Mayo Clinic Proceedings* 1988; 63 (8): 794-800.
8. Arechavaleta R. El efecto fisiológico de las incretinas. *Advanced Studies in Medicine* 2006; 6 (7A): S581-S585.
9. Holst JJ, Vilsbøll T, Deacon CF. The incretin system and its role in type 2 diabetes mellitus. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2009; 297 (1-2): 127-36.
10. Asmar M, Holst JJ. Glucagon-like peptide 1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide: new advances. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity* 2010; 17 (1): 57-62.
11. Szalowska E, Meijer K, Kloosterhuis N, Razaee F, Priebe M, Vonk RJ. Sub-chronic administration of stable GIP analog in mice decreases serum LPL activity and body weight. *Peptides* 2011; 32 (5): 938-45.
12. Irwin N, Francis JM, Flatt PR. Alterations of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) during cold acclimation. *Regulatory Peptides* 2011; 167 (1): 91-6.
13. Parker HE, Reimann F y Gribble FM. Molecular mechanisms underlying nutrient-stimulated incretin secretion. *Expert Reviews in Molecular Medicine* 2010; 12: e1.
14. Holst JJ. The Physiology of Glucagon-like Peptide 1. *Physiological Reviews* 2007; 87: 1409-1439.
15. Mortensen K, Christensen LL, Holst JJ, Orskov C. GLP-1 and GIP are colocalized in a subset of endocrine cells in the small intestine. *Regulatory Peptides* 2003; 114 (2-3): 189-96.
16. Fujita Y, Wideman RD, Speck M, Asadi A, King DS, Webber TD, Haneda M y Kieffer TJ. Incretin release from gut is acutely enhanced by sugar but not by sweeteners in vivo. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2009; 296: E473-E479.
17. Reimer RA. Meat hydrolysate and essential amino acid-induced glucagon-like peptide-1 secretion, in the human NCI-H716 enteroendocrine cell line, is regulated by extracellular signal-regulated kinase1/2 and p38 mitogen-activated protein kinases. *Journal of Endocrinology* 2006; 191: 159-170.
18. Shimotoyodome A, Fukuoka D, Suzuki J, Fujii Y, Mizuno T, Meguro S, Tokimitsu I y Hase T. Coingestion of Acylglycerols Differentially Affects Glucose-Induced Insulin Secretion via Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide in C57BL/6J Mice. *Endocrinology* 2009; 150 (5): 2118-26.
19. Schirra J, Katschinski M, Weidmann C, Schäfer T, Wank V, Arnold R y Göke B. Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *Journal of Clinical Investigation* 1996; 97 (1): 92-103.
20. Yoder SM, Yang Q, Kindel TL, Tso P. Stimulation of incretin secretion by dietary lipid: is it dose dependent? *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 2009; 297 (2): G299-305.
21. Karamanlis A, Chaikomin R, Doran S, Bellon M, Bartholomeusz FD, Wishart JM, Jones KL, Horowitz M, Rayner CK. Effects of protein on glycemic and incretin responses and gastric emptying after oral glucose in healthy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2007; 86 (5): 1364-8.
22. Hirasawa A, Tsumaya K, Awaji T, Katsuma S, Adachi T, Yamada M, Sugimoto Y, Miyazaki S, Tsumimoto G. Free fatty acids regulate gut incretin glucagon-like peptide-1 secretion through GPR120. *Nature Medicine* 2005; 11 (1): 90-4.
23. Carr RD, Larsen MO, Winzell MS, Jelic K, Lindgren O, Deacon CF, Ahrén B. Incretin and islet hormonal responses to fat and protein ingestion in healthy men. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2008; 295 (4): E779-84.
24. Deacon CF, Nauck MA, Meier J, Hücking K, Holst JJ. Degradation of endogenous and exogenous gastric inhibitory polypeptide (GIP) in healthy and in type 2 diabetic subjects as revealed using a new assay for the intact peptide. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000; 85: 3575-3581.
25. Vilsbøll T, Agerso H, Krarup T, Holst JJ. Similar elimination rates of glucagon-like peptide-1 in obese type 2 diabetic patients and healthy subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003; 88: 220-224.
26. Wellendorph P, Johansen LD, Bräuner-Osborne H. The emerging role of promiscuous T1R2 receptors as chemosensors for food intake. *Vitamins and Hormones* 2010; 84: 151-84.
27. Harada N. Structure and function of incretin receptor. *Nippon Rinsho* 2001; 69 (5): 813-20.
28. Yip RG, Wolfe MM. GIP biology and fat metabolism. *Life Sciences* 2000; 66 (2): 91-103.
29. Dhanvantari S, Izzo A, Jansen E, Brubaker PL. Coregulation of glucagon-like peptide-1 synthesis with proglucagon and prohormone convertase 1 gene expression in enteroendocrine GLUTag cells. *Endocrinology* 2001; 142 (1): 37-42.
30. Meier JJ y Nauck MA. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide/gastric inhibitory polypeptide. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004; 18 (4): 587-606.
31. Daoudi M, Hennuyer N, Borland MG, Touche V, Duhem C, Gross B, Caiazzo R, Kerr-Conte J, Pattou F, Peters JM, Staels B, Lestavel S. PPAR β/δ Activation Induces Enteroendocrine L Cell GLP-1 Production. *Gastroenterology* 2011. [Epub ahead of print]
32. Jin T y Liu L. The Wnt Signaling Pathway Effector TCF7L2 and Type 2 Diabetes Mellitus. *Molecular Endocrinology* 2008; 22 (11): 2383-92.
33. Jin T. The WNT signalling pathway and diabetes mellitus. *Diabetologia* 2008; 51 (10): 1771-80.
34. García-Martínez JM, Chocarro-Calvo A, Moya CM, García-Jiménez C. WNT/beta-catenin increases the production of incretins by entero-endocrine cells. *Diabetologia* 2009; 52 (9): 1913-24.
35. Yi F, Brubaker PL, Jin T. TCF-4 mediates cell type-specific regulation of proglucagon gene expression by beta-catenin and glycogen synthase kinase-3beta. *The Journal of Biological Chemistry* 2005; 280 (2): 1457-64.
36. Gustafson B y Smith U. WNT signalling is both an inducer and effector of glucagon-like peptide-1. *Diabetologia* 2008; 51: 768-1770.
37. MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Developmental Cell* 2009; 17 (1): 9-26.
38. Anagnostou SH, Shepherd PR. Glucose induces an autocrine activation of the Wnt/beta-catenin pathway in macrophage cell lines. *Biochemical Journal* 2008; 416 (2): 211-8.
39. www.rgd.mcw.edu/wg/pathway/hexosamine_biosynthetic_pathway
40. Takemaru KI, Moon RT. The transcriptional coactivator CBP interacts with beta-catenin to activate gene expression. *The Journal of Cell Biology* 2000; 149 (2): 249-54.