PubliCE, (PubliCE) 2002

Revision of Literature

Metabolismo de la Glucosa en el Músculo Esquelético

Jacob E Friedman[1]

[1]*Pew Center for Molecular Nutrition, and Department of Nutrition, Case Western Reserve University School of Medicine Cleveland, OH 44106.*

RESUMEN

El músculo esquelético juega un rol central en la regulación del metabolismo de la glucosa de todo el cuerpo. Debido a su masa, el músculo esquelético es el principal tejido responsable del clearence de glucosa dependiente de insulina, explicando más del 80 % de la captación de glucosa de todo el cuerpo. Bajo condiciones de ayuno, cuando la insulina esta baja, el músculo es responsable de menos del 10 % de la captación de glucosa de todo en cuerpo, ya que el sistema nervioso central se vuelve el más importante consumidor de glucosa sanguínea. Sin embargo, cuando la glucosa circulante se incrementa, el músculo se vuelve cuantitativamente el tejido más importante implicado en el metabolismo de la glucosa. A pesar de los altos niveles de captación de glucosa que ocurren en el músculo, la concentración intracelular de glucosa libre no cambia. Esto indica que la glucosa es rápidamente metabolizada por el músculo, y que el transporte de glucosa a través de la membrana celular es el paso limitante de la velocidad de utilización de glucosa. Las rutas metabólicas usadas para apoyar el metabolismo del músculo esquelético dependen del tipo y función de las fibras presentes en el músculo. Por ejemplo, el músculo esquelético blanco tiene pocas mitocondrias, se contrae muy rápido, pero puede sostener contracciones repetitivas por corto tiempo. Este tipo de músculo depende de la glucólisis como fuente principal de ATP, y la velocidad del transporte, estimulado por la insulina es baja. El músculo rojo, de otro modo, es rico en mitocondrias, deriva la mayoría de sus moléculas de ATP a partir del metabolismo oxidativo, y tiene una velocidad relativamente alta de captación de glucosa, en respuesta a la insulina. El músculo en reposo contiene el equivalente de un 1 % de su peso en forma de glucógeno, y el mismo constituye una fuente significativa de ATP para la contracción muscular, especialmente bajo condiciones anaeróbicas. Sin embargo, a diferencia del hígado, el tejido muscular no es capaz de proveer de glucosa a la circulación sanguínea, debido a la ausencia de la enzima glucosa-6-fosfatasa. Durante el tiempo entre la alimentación y el ayuno de corta duración, la glucosa sanguínea permanece dentro de límites normales debido, en parte, a la habilidad de los músculos de proveer sustratos para el hígado, el cual los puede convertir en glucosa, es decir, sustratos energéticos como lactato, piruvato, y alanina. Bajo ciertas condiciones metabólicas, el músculo rojo (fibras tipo I y IIA), pueden remover el lactato de la sangre y oxidarlo para la producción de energía, mientras que el músculo blanco (fibras tipo IIB) puede tener la capacidad de sintetizar glucosa a partir del lactato. Los músculos contienen enzimas necesarias para la síntesis de glucógeno, la glucólisis y la oxidación de la glucosa. La regulación de enzimas metabólicas en el músculo esquelético ocurre como respuesta a cambios en la demanda de ATP, la disponibilidad de sustratos, y en repuesta a la estimulación hormonal y neural. Los principales reguladores hormonales de la actividad enzimática en el músculo esquelético, son la insulina, la cual permite la captación de glucosa y su posterior conversión a glucógeno, y la epinefrina, que estimula la producción de AMP cíclico (cAMP) y por esto activa una cascada enzimática que conduce al catabolismo del glucógeno. La actividad enzimática está controlada alostericamente por las concentraciones de ATP, AMP, Ca^{++}, acetil-CoA y citrato. Así, las rutas metabólicas que regulan el catabolismo de los carbohidratos en el músculo esquelético están influenciadas por una combinación de factores, incluyendo la disponibilidad de sustratos, la concentración de enzimas reguladoras y sus niveles de actividad, y el estado energético del músculo.

Palabras Clave: glucógeno, resíntesis, gluconeogénesis, lactato, alanina, ciclo de Krebs

REGULACIÓN DEL TRANSPORTE DE GLUCOSA

La utilización de glucosa por el músculo puede ser controlada en una extensión significativa por medio de la concentración plasmática de glucosa. La concentración plasmática de glucosa es regulada por la ingesta dietaria y por la producción hepática y renal de glucosa. Además, la tasa en que la glucosa entra al músculo puede ser modificada significativamente por la concentración de insulina circulante.

El metabolismo de la glucosa en el músculo esquelético es controlado en una gran extensión por el transporte de glucosa a través de la membrana celular, el cual ocurre por medio de difusión facilitada. Este proceso independiente de energía, es mediado por una única familia de transportadores facilitativos de glucosa, llamados GLUT 1-GLUT 5, los cuales han sido recientemente aislados, clonados y secuenciados. Los transportadores de glucosa pueden ser detectados en asociación con membranas purificadas del músculo esquelético. El transportador de glucosa GLUT 4, es el mayor transportador de glucosa expresado en el músculo esquelético y es único, en tanto, que es la única isoforma de transportador de glucosa, capaz de ser reclutado a la superficie de la membrana de la célula muscular en respuesta a la insulina.

El músculo esquelético también expresa una segunda isoforma, el transportador GLUT 1. Sin embargo, la proteína GLUT 1 es mucho menos abundante en el músculo, formando quizás un 5-10 % del total de trasportadores. En las células musculares que crecen en cultivo, el GLUT 1 es el principal transportador responsable del transporte de glucosa, mientras que la expresión GLUT 4 está significativamente reducida, y responde pobremente a la insulina. Entre los tipos de fibras musculares, ha sido encontrado que las fibras musculares rojas (Tipo I) contienen las mayores cantidades de transportadores de glucosa GLUT 4, mientras que los músculos blancos (Tipo II) contienen solo ¼ de la cantidad detectada en el músculo rojo y esto puede explicar la menor sensibilidad a la insulina para el transporte de glucosa.

Usando microscopio electrónico y anticuerpos de transportadores específicos, ha sido encontrado que los GLUT 4 residen en un único compartimiento cerca de los túbulos (T) transversos, mientras que los GLUT 1 parecen ser más abundantes en la superficie de la membrana plasmática del músculo esquelético humano. Esta distribución sugiere que los GLUT 1 pueden estar involucrados en el transporte basal de glucosa en ausencia de insulina, mientras que los GLUT 4 experimentan una translocación a la superficie de la membrana (sarcolema), así como a la membrana de los túbulos-T, esta puede constituir una importante función, reduciendo la distancia de difusión de la glucosa, para alcanzar a la enzima hexoquinasa, la cual esta asociada con la mitocondria en el centro del músculo, entre las miofibrillas y sirve para fosforilar rápidamente a la glucosa-6-fosfato, y por esto para atrapar a la glucosa en la célula.

SEÑALES DE LA INSULINA

La insulina estimula una variedad de rutas metabólicas en la célula muscular. En particular, la insulina es responsable de la señalización del reclutamiento o translocación de transportadores de glucosa, desde una fuente intracelular hacia la membrana celular; de la síntesis de glucógeno incrementada; de la oxidación de glucosa por medio de la glucógeno sintetasa (GS), y de la actividad enzimática de la piruvato dehidrogenasa (PDH). La insulina también puede incrementar la actividad intrínseca de los transportadores de glucosa GLUT 4, y por esto aumentar la actividad del transporte de glucosa sin incrementar la inserción de transportadores de glucosa almacenados en el compartimiento intracelular, en la membrana plasmática.

La naturaleza de la señal de la insulina permanece incompletamente entendida, debido en parte a la compleja naturaleza del receptor de insulina y a su único mecanismo de acción. La acción de la insulina es iniciada, cuando la misma se une a un receptor de membrana específico, localizado en la superficie de la célula. El receptor de insulina es un heterodímero compuesto de 2 dominios (subunidades) unidos, ligados extracelularmente, conectados a dos dominios (subunidades) transmembrana, los cuales son responsables de propagar la señal de la insulina. La subunidad tiene una proteín quinasa intrínseca, que estimula su autofosforilación en respuesta a la unión con la insulina.

La activación del receptor quinasa constituye el evento más rápido, luego de la unión de la insulina con su receptor, y conduce a la fosforilación de varias proteínas celulares sobre residuos tirosina. Han sido encontradas varias serina y treonina quinasas dependientes de insulina y ha sido sugerida su activación por medio de la fosforilación de la tirosina de una proteína citoplasmática con una masa molecular de 165-185 kd, llamada receptor de insulina sustrato-1 (IRS). Aunque la proteína IRS-1 contiene múltiples sitios de fosforilación de serina/treonina, todavía debe ser descrita una relación directa entre el IRS-1 y los transportadores de glucosa. Por otra parte, los transportadores de glucosa no parecen ser regulados por medio de fosforilación, y así el mecanismo de traducción de señal, desde el receptor hasta los

transportadores de glucosa y su translocación a la membrana celular deben todavía ser descritos a nivel celular.

REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE GLUCÓGENO

Luego del transporte a través de la membrana celular del músculo, la glucosa es rápidamente fosforilada por la hexoquinasa a glucosa-6-fosfato (G-6-P), lo que atrapa a la glucosa dentro de la célula. A diferencia del hígado, el músculo esquelético no contiene la enzima glucosa-6-fosfatasa que permite a la glucosa salir de la célula muscular. La actividad de la hexoquinasa es inhibida por altos niveles de glucosa-6-fosfato, la cual sirve para regular la disponibilidad de G-6-P en la célula. A diferencia de otras enzimas en el músculo esquelético, la cantidad de la enzima hexoquinasa es altamente inducible por la insulina, que sirve para regular la disponibilidad de G-6-P en la célula. La glucosa-6-fosfato ocupa el primer punto de ramificación en el metabolismo de la glucosa. En la síntesis de glucógeno, la misma es convertida primero a glucosa-1-fosfato, la cual se combina con el UTP para formar UDP-glucosa. La unidad glucosídica del UDP-glucosa es transferida al glucógeno por medio de la enzima glucógeno sintetasa (GS), la cual constituye el paso determinante de la velocidad en la ruta metabólica de síntesis de glucógeno.

La glucógeno sintetasa constituye el sitio de regulación por factores hormonales y no hormonales. La glucógeno sintetasa existe en una forma I (independiente de la glucosa-6-fosfato) o una forma D (dependiente de la glucosa-6-fosfato). La forma D es la forma más fosforilada de la enzima y es menos activa en la ausencia de altos niveles de glucosa-6-fosfato, mientras que la forma I está menos fosforilada, y es una forma más activa de la glucógeno sintetasa. La interconversión de las dos formas es catalizada por una serie de cuatro quinasas diferentes y por la enzima fosfoproteín fosfatasa (PP-1).

Las actividades de esta serie de quinasas están controladas por el AMPc y la insulina. La insulina induce la defosforilación de la forma D de la glucógeno sintetasa a través de la acción de la PP-1. La inhibición de la PP-1 es dependiente de la proteín quinasa (A-quinasa) dependiente de cAMP, y esto esencialmente detiene la síntesis de glucógeno a menos que la glucosa-6-fosfato sea suficientemente alta. El incremento de los niveles de glucógeno en el músculo también actúan como mecanismo de retroalimentación por medio de la inhibición de la actividad de la PP-1, por esto reduciendo la cantidad de la GS en la forma I y limitando la síntesis de glucógeno.

La elevación del cAMP aumenta la fosforilación de la glucógeno sintetasa en la forma D y disminuye la afinidad del glucógeno con la UDP-glucosa en la ausencia de glucosa-6-fosfato, mientras que a bajos niveles de fosforilación, es requerida menos glucosa-6-fosfato para activar la glucógeno sintetasa. En anticipación al ejercicio o durante la actividad muscular, la hormona epinefrina es liberada a la sangre. La acción de la epinefrina cuando ocupa su receptor, constituye la estimulación de la activación de la enzima adeniciclasa, que conduce a la formación de AMP cíclico (cAMP). El AMP cíclico activa a proteín quinasas (A quinasas) dependientes de cAMP, las cuales inactivan a la glucógeno sintetasa, activando la conversión de la GS de la forma I a la forma D, la cual es una forma menos activa. Al mismo tiempo, la glucógeno sintetasa es inhibida por la activación de la quinasa-A, la enzima degradatiba glucógeno fosforilasa es activada, y son favorecidos el catabolismo del glucógeno y la glucólisis.

REGULACIÓN DEL CATABOLISMO DEL GLUCÓGENO

La glucogenólisis, o el catabolismo del glucógeno, es catalizado por la enzima glucógeno fosforilasa, y constituye el primer paso en la producción de energía a través de la ruta metabólica de la glucólisis. La fosforilasa quita glucosa secuancialmente en la forma de glucosa-1-fosfato de cada cadena de la molécula de glucógeno. Esta enzima existe en dos formas, fosforilasa a y b. La fosforilasa b en la forma desforforilada y está activa solo en presencia de altos niveles de AMP, tal como ocurre durante la depleción energética. La forma b es también capaz de ser fosforilada por una quinasa específica, que requiere calcio, y puede ser convertida a fosforilasa a. La interconversión de fosforilasa a y b constituye un importante mecanismo fisiológico regulatorio. La forma a es efectiva en la ausencia de AMP, pero esta sujeta a la regulación positiva por niveles incrementados de cAMP en los tejidos.

La actividad de la fosforilasa b es normalmente baja debido a los altos niveles de glucosa-6-fosfato y ATP normalmente encontrados en las células musculares en reposo, que actúan como inhibidores. Con niveles disminuidos de estos inhibidores, la actividad de la fosforilasa b se incrementa para aumentar el catabolismo del glucógeno y actúa como una defensa contra bajos niveles energéticos en la célula. En contraste, en presencia de cAMP, o durante la contracción muscular cuando el calcio es liberado durante la despolarización de las células musculares, la fosforilasa b puede ser convertida a la forma a en segundos. Esto lleva a una velocidad incrementada de catabolismo del glucógeno, y permite un

acoplamiento entre la contracción muscular y la producción de energía a través de la ruta metabólica de la glucólisis.

REGULACIÓN DE LA GLUCÓLISIS

Pocos tejidos generan cantidades significativas de ATP por medio de la glucólisis anaeróbica, ya que el aporte de oxígeno y los requerimientos de ATP en estado estable en la mayoría de los tejidos de los mamíferos, son constantes. El músculo esquelético constituye la excepción destacada, ya que los requerimientos de ATP para contracciones repetidas exceden frecuentemente a aquellos posibles por el aporte de oxígeno disponible. El aporte de ATP a corto plazo es proporcionado por el catabolismo del glucógeno a glucosa-6-fosfato, y las reacciones subsecuentes que producen ácido láctico.

La enzima fosfofructo quinasa (PFK-1) cataliza el primer paso irreversible de la glucólisis entre la fructosa-6-fosfato y la fructosa-1-6-bifosfato, y es considerado el primer paso regulador en al glucólisis. La enzima PFK también proporciona un punto de control entre el metabolismo oxidativo en la mitocondria y la producción de energía anaeróbica. La actividad de la PFK es controlada en parte por la disponibilidad de sustratos (fructosa-6-fosfato) y a través de regulación alostérica por una variedad de pequeñas moléculas. La actividad de la PFK es inhibida por altos niveles de ATP y citrato (formado durante el metabolismo aeróbico), y es acelerada por el fosfato inorgánico (Pi), AMP, ADP y AMP cíclico, como ocurre cuando el nivel de aporte de oxígeno es limitado.

En condiciones anaeróbicas, el piruvato es convertido a ácido láctico por la enzima lactato dehidroganasa (LDH), resultando en una producción neta de 2 ATP por molécula de glucosa. El lactato producido durante el ejercicio en las fibras musculares blancas glucolíticas es transportado fuera de la célula muscular por un transportador específico y puede ser tomado y oxidado aeróbicamente por las fibras musculares rojas. Mientras que las fibras musculares blancas contienen niveles más altos de enzimas glucolíticas y una menor concentración de mitocondrias, y así favorecen la metabolización de glucosa a ácido láctico en vez de a piruvato para su oxidación en las mitocondrias. De otro modo, las fibras rojas oxidativas, tienen una mayor capacidad aeróbica y van a convertir el lactato a piruvato para la producción de ATP, por medio de la reacción enzimática reversible de la LDH. Así, el lactato derivado de un tipo de fibra muscular puede proveer una fuente de energía significativa para otros tipos de músculos.

El paso final de la glucólisis involucra la conversión de fosfoenolpiruvato, el cual representa otro paso de control de la velocidad de la glucólisis. Esta reacción es catalizada por la enzima piruvato quinasa (PK), y es fisiológicamente irreversible. Las circunstancias que favorecen esta reacción son similares a aquellas que aumentan la PFK, mientras que el ATP, Ca^{++} y la alanina, inhiben esta reacción.

CICLO GLUCOSA-ALANINA EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO

En las células musculares, la formación de piruvato es el punto final de la glucólisis. En fibras musculares tipo II b incubadas con altas concentraciones de lactato o piruvato, ha sido observada la formación de glucógeno. Para llevar a cabo la resíntesis de glucosa a partir de fuentes no glúcidas, se requiere de un grupo separado de enzimas necesarias para la glucólisis invertida. Esto incluye a la piruvato carboxilasa (PC), que cataliza la conversión de piruvato a oxaloacetato (OAA) en la mitocondria.

El oxaloacetato no puede cruzar la membrana mitocondrial, y de este modo debe experimentar primero la conversión a malato, el cual luego puede ser transportado fuera de la mitocondria donde es reconvertido de vuelta a OAA. El oxaloacetato en el citosol luego experimenta la descarboxilación a fosfoenolpiruvato, una reacción catalizada por la enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK). Estos dos pasos catalizados por la PC y PEPCK, permiten a la célula superar el paso irreversible de la glucólisis de la piruvato quinasa.

El fosfoenolpiruvato puede luego ser convertido a fructosa-1-6-bifosfato, donde el mismo debe desviar el paso irreversible catalizado por la enzima PFK. Esto es realizado usando a la enzima fructosa-1-6-bifosfatasa para formar fructosa-6-fosfato. La vía desde fructosa-6-fosfato hasta glucógeno puede luego proceder en la dirección opuesta usando las mismas enzimas que durante la glucólisis. Sin embargo, esta ruta metabólica es muy extensa, ya que requiere el equivalente de 6 ATPs para producir una molécula de glucosa. Por otra parte, la PEPCK y PC están expresadas en un nivel bajo en el músculo esquelético en comparación al hígado, donde tiene lugar la mayor parte de la síntesis de glucosa.

Dos sustratos gluconeogénicos de gran importancia son el lactato y el piruvato, las primeras sustancias difusibles

producidas por el músculo en el catabolismo del glucógeno. En animales en ayuno, o en respuesta a la epinefrina hay una caída en el glucógeno muscular, un incremento del lactato sanguíneo y también de la alanina. Estos productos son tomados por el hígado y son convertidos a glucosa para mantener la glucosa sanguínea en el estado de ayuno. La alanina es sintetizada en el músculo a partir del piruvato, derivado de ambas, del catabolismo del glucógeno, o a partir de los aminoácidos como resultado del catabolismo proteíco. Ya que la alanina liberada del músculo se incrementa en una extensión mucho más grande de la que está presente en el músculo, existe una vía por medio de la cual los aminoácidos derivados a partir de la degradación de proteínas pueden ser convertidos a alanina. En este escenario, los aminoácidos contribuyen con el nitrógeno para la síntesis de alanina por medio de la aminotransaminación usando al α-cetoglutarato como un aceptor de grupos amino, formando glutamato. Durante este proceso, el α-cetoácido formado puede también ser convertido en un intermediario del ciclo de Krebs, convertido a oxaloacetato, y luego a piruvato por medio de las reacciones catalizadas por la PEPCK y PK, como fue antes explicado.

Una vez que el piruvato es producido, ocurren una de dos cosas, es trasportado dentro de la mitocondria, convertido a acetil-CoA, y luego es completamente oxidado por medio del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA), o puede ser transaminado a alanina en una reacción catalizada por la alanina aminotransferasa. En el estado de alimentación normal, la mayoría del piruvato es oxidado. Durante la inanición o durante una dieta baja en carbohidratos, muy poco piruvato va a ser oxidado ya que la enzima piruvato dehidrogena (PDH) va a estar presente en la forma inactiva. El piruvato sigue entonces un destino alternativo para formar alanina.

REGULACIÓN DE LA OXIDACIÓN DE GLUCOSA - EL CICLO DE KREBS

Por cada molécula de glucosa consumida durante la glucólisis, son producidas dos moléculas de piruvato. La ruta metabólica para el metabolismo posterior del piruvato, tiene lugar en la mitocondria, y es usualmente llamada ciclo de Krebs, después de que el Sr. Hans Krebs propusiera la naturaleza cíclica de la ruta metabólica en 1937. Un paso crucial en este proceso en la descarboxilación oxidativa del piruvato a acetil-CoA. El paso ocurre solo en la mitocondria y es catalizado por la enzima piruvato dehidrogensa (PDH). La PDH está sujeta a control alostérico y covalente. La actividad de la PDH es inhibida por altos niveles de NADH y acetil-CoA, ambos son productos de la reacción. La enzima es también inhibida por ATP, el punto final del metabolismo del piruvato. Ya que la oxidación de ácidos grasos constituye la fuente más grande de acetil-CoA en la mitocondria, los mismos tienden a inhibir a la PDH y a reducir la oxidación de glucosa. La PDH es también modificada covalentemente por la insulina, por medio de una fosfatasa específica, la cual desfosforila y activa a la enzima, mientras que la fosforilación por medio de una quinasa específica inactiva a la PDH.

Las enzimas del ciclo de Krebs están localizadas en la matriz mitocondrial, y su función es transferir equivalentes reducidos en la forma de hidrógeno o electrones hacia las enzimas adyacentes de la cadena respiratoria, donde son generadas grandes cantidades de ATP en el proceso de fosforilación oxidativa. La condensación inicial de acetil-CoA con oxaloacetato para formar citrato es catalizada por la enzima citrato sintetasa, el cual puede ser un paso regulador, con el ATP, NADH, y el succinil-CoA como inhibidores.

En el estado alimentado, la insulina conduce a un aumento de dos veces en la oxidación muscular de la glucosa mientras que el ejercicio puede aumentar más de 10 veces la oxidación muscular de glucosa. La oxidación incrementada de glucosa del músculo entrenado es consumada por medio de un número incrementado de mitocondrias, y puede ser detectado por un incremento en la actividad de la enzima citrato sintetasa, un marcador enzimático frecuentemente medido en las biopsias musculares, para determinar el estado de entrenamiento de un músculo. El citrato por si mismo juega un rol importante en el metabolismo, debido a su fácil paso a través de la membrana mitocondrial, y si el mismo se acumula, actúa como un efector negativo de la enzima glucolítica PFK, y por esto disminuye la velocidad de la glucólisis.

De los 10 pasos del ciclo de Krebs, 3 implican transferencia de energía en la forma de $NADH_2$ (la forma reducida del NAD), El $NADH_2$ transfiere su energía a través de una serie de reacciones acopladas a la transferencia de electrones por medio de la cadena respiratoria, culminando en una reacción con oxígeno. El resultado final es la generación de 36 ATP por molécula de glucosa que recorra completamente el ciclo de Krebs. Estas reacciones son un determinante crítico de la función fisiológica de un tejido. En el músculo esquelético rojo que está densamente poblado por mitocondrias, el ejercicio puede ser sostenido por largos períodos de tiempo ya que a través del ciclo de Krebs pueden ser producidos altos niveles de síntesis de ATP. De otro modo, las fibras musculares blancas, tienen menos mitocondrias y de este modo derivan la mayoría de su energía para contracciones intensas y cortas del ATP generado a través de la ruta metabólica glucolítica.

Dirección para Correspondencia: Department of Biochemistry, Case Western Reserve, University, Cleveland, OH 44106-4935. Ph. (216) 368-6166. Fax. (216) 368-4544.

REFERENCIAS

1. Brobeck, J.R (1979). Physiological Basis of Medical Practice. *Baltimore: The Williams & Wilkins Company*
2. Devlin, T.M (1993). Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. *2nd Edition, New York: John Wiley & Sons*
3. Newsholme, E.A. and A.R. Leech (1983). Biochemistry for the Medical Sciences. *New York: John Wiley & Sons*
4. Sugden, M.C., M.J. Holness. and T.N. Palmer (1989). Fuel selection and carbon flux during the starved-to-fed transition. *Biochem. J. 263:313-323*

Cita Original

Jacob E. Friedman. Glucose Metabolism in Skeletal Muscle. Sportscience, 2002.