

Efecto en la ingesta de alimento e inducción de resistencia a la insulina de la glucosamina oral subcrónica sobre rata nulípara y gestante

Cornelio Barrientos-Alvarado,* Atanasia Silvia Cárdenas-Oscoy,** Jorge Vázquez-Sánchez,*** Osvaldo Garrido-Acosta*

RESUMEN

La glucosamina puede contribuir a la resistencia a la insulina e interferir en el metabolismo de la glucosa favoreciendo la vía biosintética de las hexosaminas y aumento de sus productos finales (UDP-N-acetylglucosamina), así como la síntesis del RNA mensajero de leptina en células musculares y adipocitos de rata. Se administró a ratas hembras glucosamina por vía oral equivalente a 300 (exp:1, nulípara) y 900 (exp:2, en gestación) mg/kg de peso diariamente, durante 11 y 15 semanas, respectivamente, se midió el peso corporal, ingestión de alimento, niveles de glucosa en sangre, y de insulina, leptina y triglicéridos en plasma y se les realizó la curva de tolerancia a la glucosa e insulina. El objetivo fue evaluar el efecto de la glucosamina en el peso corporal y durante la gestación en rata. No se observó diferencia en la ingestión de alimento, ni en los niveles de leptina y triglicéridos en plasma para ninguna dosis. Las curvas de tolerancia a la glucosa mostraron concentraciones de glucosa sanguínea mayores a los 60 y 120 min posteriores con respecto al grupo control (ANOVA $p < 0.05$), de ambas dosis de glucosamina y sin alteración en los niveles de insulina en plasma, la curva de tolerancia a la insulina observó una disminución en la glucemia en ambos grupos, sin ser significativa; en las crías no se observaron cambios en la glucemia y el peso corporal, solo hasta el día 35 posparto mostró ser mayor para las crías de madres con glucosamina con una dosis de 900 mg/kg/día. Se concluye que la glucosamina administrada por vía oral a dosis de 300 y 900 mg/kg/día en rata, diariamente, durante once y quince semanas no afecta la ingestión de alimento, peso corporal y secreción de leptina, no produce resistencia a la insulina, ni alteraciones significativas durante la gestación en el metabolismo de la glucosa. Se recomienda vigilar los niveles de glucemia en sangre, ya que pudiera presentarse intolerancia a la glucosa de la rata.

Palabras clave: Glucosamina, resistencia a la insulina, vía biosintética de las hexosaminas y gestación.

ABSTRACT

The glucosamine can contribute to insulin resistance and interfere with the glucose metabolism favoring the hexosamine biosynthetic pathway, and increased final products (UDP-N-acetylglucosamine), and the synthesis of leptin messenger RNA on muscle and adipocytes cells of rat. Female rats were administered with oral glucosamine equivalent to 300 (exp:1 nulipara) and 900 (exp:2, gestation) mg/kg daily for 11 and 15 weeks respectively. And was measured body weight, intake food, blood glucose levels and insulin, leptin and triglycerides in plasma and the curve glucose tolerance and insulin tolerance. The aim was to evaluate the effect of glucosamine on body weight and during pregnancy in rats. No difference was observed in feed intake, and leptin levels in plasma triglycerides for any dose. Curves glucose tolerance showed higher blood glucose concentrations at 60 and 120 min later with respect to the control group (ANOVA, $p < 0.05$), both doses of glucosamine without alteration in plasma insulin levels, the curve insulin tolerance observed a decrease in blood glucose in both groups, without significant, in the offspring was not observed changes in blood glucose and body weight showed only up to day 35 postpartum be greater for the offspring of mothers with glucosamine with a dose of 900 mg/kg/day. Concluded that glucosamine orally administered at doses of 300 and 900 mg/kg/day in rats, daily for eleven and fifteen weeks respectively not affect food intake, body weight and leptin secretion, not produce insulin resistance, any significant changes during pregnancy in glucose metabolism. Is recommended to monitor blood glucose levels, as it is presumed may arise glucose intolerance in rat.

Key words: Glucosamine, insulin resistance, hexosamine biosynthetic pathway and gestation.

* Departamento de Fisiología, Escuela Superior de Medicina, IPN.

** Departamento de Posgrado.



INTRODUCCIÓN

La glucosamina se ha utilizado en los últimos años como una sustancia natural administrada para el tratamiento de la osteoartritis,¹ datos en humanos demuestran que el sulfato de glucosamina disminuye la degeneración articular, ya que ésta es esencial para estimular la síntesis de glucolípidos, glucosaminoglucanos, glucoproteínas, en la estructura del ácido hialurónico, para la formación de proteoglucanos matriz estructural de las articulaciones. Este producto en enfermedades articulares se ha popularizado en los últimos años adjudicando que tiene menos efectos secundarios que los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), por ser un elemento presente en el organismo de forma natural y que no requiere precauciones especiales. Sin embargo, se menciona que interfiere en el metabolismo a la glucosa poniendo en duda la administración en pacientes diabéticos, y surge la necesidad de revisar sus efectos adversos potenciales, como resistencia a la insulina.² Y aunque aparentemente no se producen efectos desfavorables sobre el desarrollo fetal ni durante la lactancia, en estas condiciones su administración debe ser limitada a los casos de necesidad y siempre a juicio del médico.³ No existen documentos que hayan estudiado estos efectos. El tratamiento con glucosamina en forma aguda mimetiza un estado de hiperglucemia por aumento en el flujo a través de la vía de las hexosaminas (VBH), esta vía puede funcionar como un sensor de la glucosa responsable de la resistencia a la insulina.⁴ Tres eventos principales regulan los niveles de glucosa en plasma y se presentan de manera coordinada después de la ingestión de carbohidratos: la estimulación de la secreción de insulina, la supresión de la producción endógena de glucosa por el hígado mediada por la insulina y la estimulación de la captura de glucosa dependiente de insulina por el músculo y por otros tejidos, la resistencia a la insulina como un evento primario en la etiopatogénesis de la diabetes mellitus II (DM-2) se ha tratado de relacionar con los cambios en la regulación de la VBH.

En células adiposas y músculo esquelético después del transporte y fosforilación de la glucosa a glucosa 6 fosfato (G-6-P) es usada principalmente en dos vías: la vía de síntesis de glucógeno y la vía de la glucólisis y sólo de 1-3% va a la VBH, cuyos productos finales son el UDP-N-acetilglucosamina (UDP-Glc-N-Ac) y UDP-N-acetilgalactosamina (UDP-Gal-N-Ac)^{4,6-8,9,10} y un aumento de estos productos finales se relaciona positivamente con el grado de la resistencia a la insulina.¹¹ Estudios demuestran que la secreción de insulina y la leptina se autorregulan por mecanismos de retroalimentación negativa. La insulina estimula la secreción de leptina por los adipocitos y a su vez la leptina actúa en las células β del páncreas

inhibiendo la secreción de insulina.¹² La VBH también podría estar involucrada, ya que se propone como un sensor intracelular de la energía disponible, del estado nutricional de la célula, que mediaría los efectos de la glucosa sobre la expresión de varios genes. También se menciona que el producto final de la VBH aumenta rápida y marcadamente la síntesis del RNA mensajero de leptina en células musculares y adipocitos de rata.¹³ Por otra parte, es sabido que durante el embarazo se llevan a cabo algunos cambios metabólicos en la madre desde el inicio de la gestación y continúan a lo largo de este periodo con el fin de optimizar la transferencia de nutrientes al feto. Una alteración que se puede presentar es la secreción deficiente de insulina durante el embarazo, presentándose una clara intolerancia a la glucosa que se conoce como diabetes gestacional (DG). Alteraciones que pueden estar relacionadas con la ingesta de glucosamina.

El presente trabajo evaluó, mediante la administración subcrónica de glucosamina por vía oral, un posible efecto en el peso corporal y de inducción de resistencia a la insulina en la rata nulípara y gestante.

MATERIAL Y MÉTODOS

Bajo una dieta estándar *ad libitum*. Ratas hembras de la cepa Wistar de 180 ± 16 g de peso promedio, divididas en dos experimentos: experimento 1 (ratas nulíparas) y experimento 2 (ratas en gestación, inicio en la semana 6), se les suministró una dosis de 300 y 900 mg/kg por día de glucosamina vía oral disuelta en el agua de beber (54 y 162 mg/35 mL)^{14,15} durante 11 y 15 semanas, respectivamente, utilizando para cada experimento su respectivo grupo control [control ($n = 8$) y estudio ($n = 8$)]. Se midió el consumo diario de alimento y agua, el peso de los animales dos veces por semana y los niveles de glucosa basal en sangre semanalmente. Al término del tratamiento se midió la concentración de insulina, leptina y triglicéridos basales y se realizó la curva de tolerancia a la glucosa e insulina. Se registró el peso corporal de las crías diariamente y glucemia en los días 7, 14, 21 y 35 posparto.

Las muestras de sangre se tomaron de la cola de la rata por punción. Las muestras se colectaron en tubos heparinizados y fueron centrifugadas a 3,000 rpm/10 min a 2 °C. La concentración de glucosa sanguínea se midió por el glucómetro. Las mediciones de insulina, leptina y triglicéridos en plasma se hicieron por métodos de inmunoensayo. Para la evaluación de la curva de tolerancia a la glucosa: se administró por vía intraperitoneal 3.5 g/kg de peso corporal de una solución al 35% de glucosa. Las mediciones se hicieron en los tiempos 0, 15, 30, 90 y 120 min,¹⁶ y para curva de tolerancia a la insulina: se midió la glucemia a

los tiempos 0, 15, 30, 45, 60, 120 y 180 min después de la administración de una solución de 0.75 UI/kg de peso (humulin, Elly Lilly, México).¹⁷

Análisis estadístico

Se hizo por varianza de medidas repetidas y t de Student para comparar las medias de cada grupo, los factores evaluados, glucosamina vs. control, en el tiempo de tratamiento, con una $p < 0.05$ es considerada estadísticamente significativa.

Los procedimientos experimentales siguen las recomendaciones del Consejo Mexicano para el Cuidado Animal (NOM-177 062-ZOO-1999).

RESULTADOS

Ingestión de alimento

En la ingestión de alimento y peso corporal no se observaron diferencias entre los grupos con administración de glucosamina en ningún experimento con respecto a los controles a lo largo del tratamiento (Figura 1).

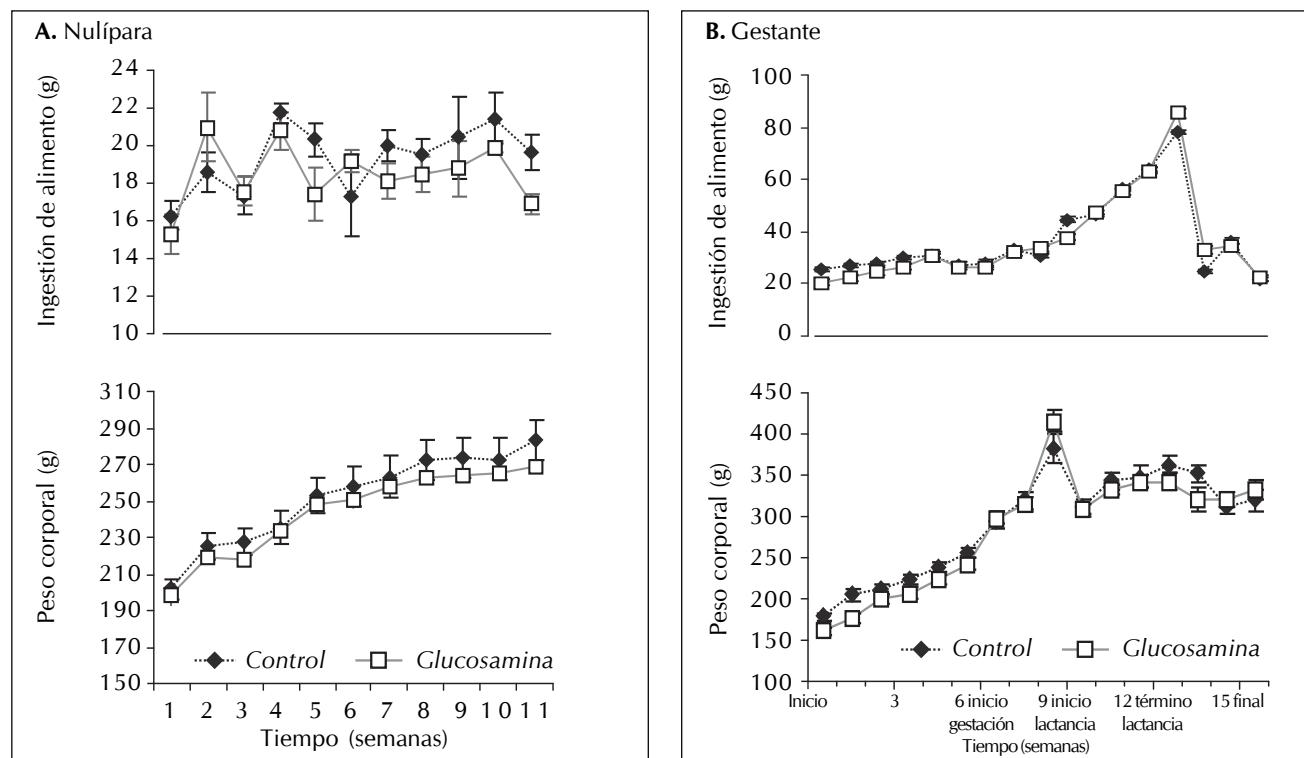


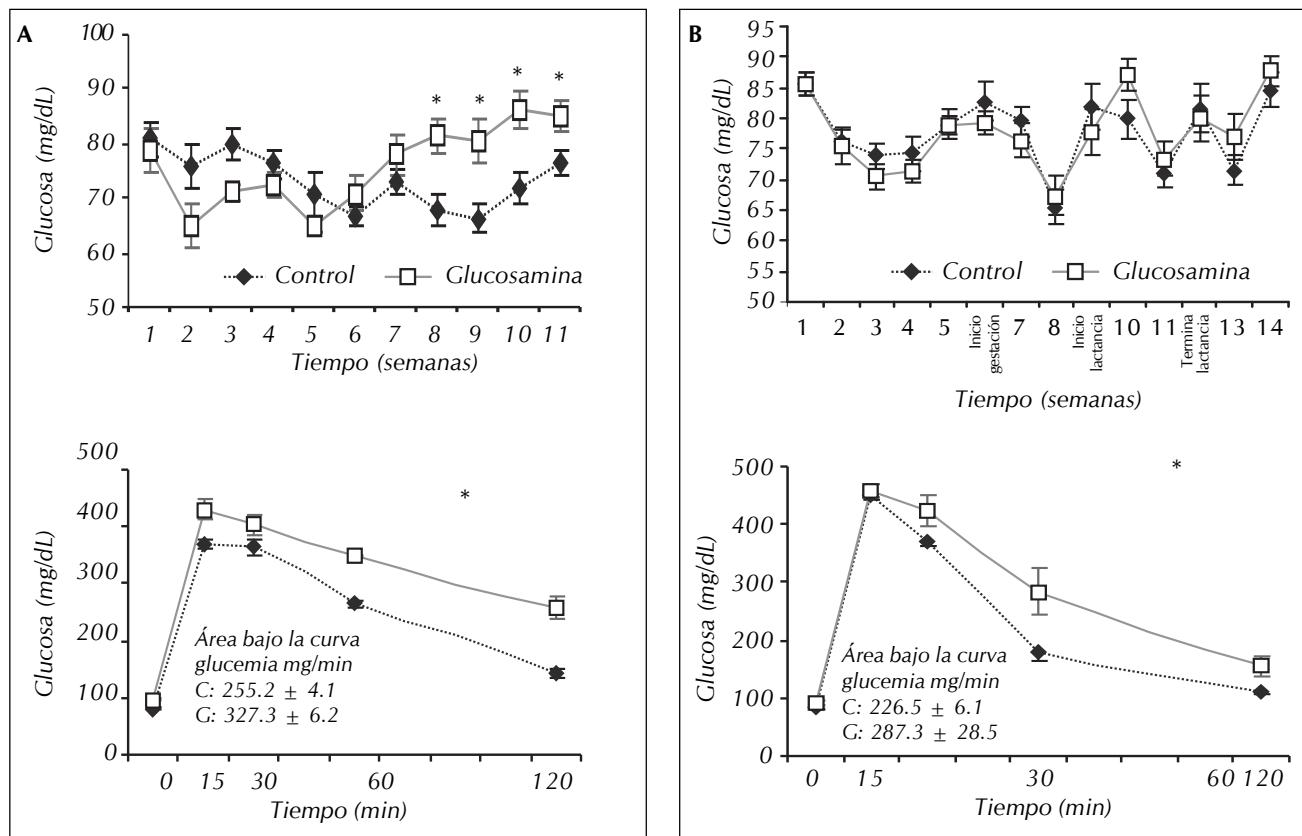
Figura 1. Ingestión de alimento y peso corporal para ratas. **A.** Con administración de glucosamina 300 mg/kg ($n = 6$) durante 11 semanas. **B.** 900 mg/kg ($n = 8$) durante 15 semanas en el agua de beber (semana 6: inicio de gestación; semana 9: inicio de lactancia; semana 12: fin de lactancia). Media \pm error estándar.

El cuadro 1 muestra la concentración de leptina y triglicéridos en plasma, medidas en las semanas 11 y 15, las cuales fueron similares entre el grupo en estudio y el grupo control.

Resistencia a la insulina

Durante los tiempos de tratamiento los niveles basales de glucosa no variaron y se mantuvieron en rangos normales, sólo se observó durante las últimas semanas una tendencia a aumentar por parte del grupo al que se le administraron 300 mg/kg de peso de glucosamina. Las curvas de tolerancia a la glucosa mostraron que existe una velocidad menor de recuperación de la glucosa basal en plasma con respecto al tiempo en los grupos tratados con glucosamina para ambas dosis al final del tratamiento, respectivamente (Figura 2).

La curva de tolerancia a la insulina para el grupo tratado con una dosis de 900 mg/kg al día mostró que no existe una diferencia en el descenso de la glucemia; sin embargo, la recuperación es más lenta para el grupo estudio mostrando sólo diferencia significativa en la última lectura (tiempo 180 min) (Figura 3A).



La curva de insulinenia obtenida de la curva de tolerancia a la glucosa mostró una tendencia a aumento de la secreción de insulina sin ser estadísticamente significativa para el grupo estudio (Figura 3B).

DISCUSIÓN

La administración crónica de glucosamina a las dosis estudiadas no afectaron la ingestión de alimento ni el peso corporal en el periodo tratado (Figura 1), siendo contrario a la hipótesis planteada en estudios de administración aguda vía intragástrica, en la cual se demostró una disminución de la ingestión de alimento.^{18,19} Sin embargo, por las tendencias mostradas de disminución en la ingestión de alimento del grupo tratado con glucosamina, y los niveles de leptina a aumentar, se presume que el tiempo de tratamiento no fue suficiente para observar los efectos descritos como en la administración aguda,^{13,20} en estudios realizados en roedores se observó que la leptina originó una disminución rápida de las concentraciones de glucosa e insu-

lina circulantes y tales cambios ocurrieron antes de que se originaran cambios en la ingesta de alimento y peso corporal.²⁰ La tendencia de disminución de los niveles de triglicéridos en plasma se puede explicar por la relación inversa existente entre la oxidación de ácidos grasos y glucosa y una competición de sustrato, disminuyendo la captación de glucosa y con ello la vía oxidativa (glucólisis) y no oxidativa (glucógeno) de ella (Cuadro 1), se ha descrito que la activación de la vía biosintética de las hexosaminas juegan un importante papel en el balance energético¹⁹ por la modulación de leptina y la acción de la insulina en tejido adiposo y músculo esquelético,^{7,13} asumiendo que los niveles de subproductos de esta vía es un indicador del metabolismo de la glucosa dentro de la célula y el rol que conlleva durante el metabolismo; aunque los resultados de glucemias ayudan sugerir la hipótesis de la activación de la VBH, que mimetiza un estado de hiperglucemia al aumentar el flujo de glucosa a través de esta vía,^{11,21,22} se encontró que hay una tendencia al aumento en la glucemia basal en el grupo al cual se le administró la glucosamina,

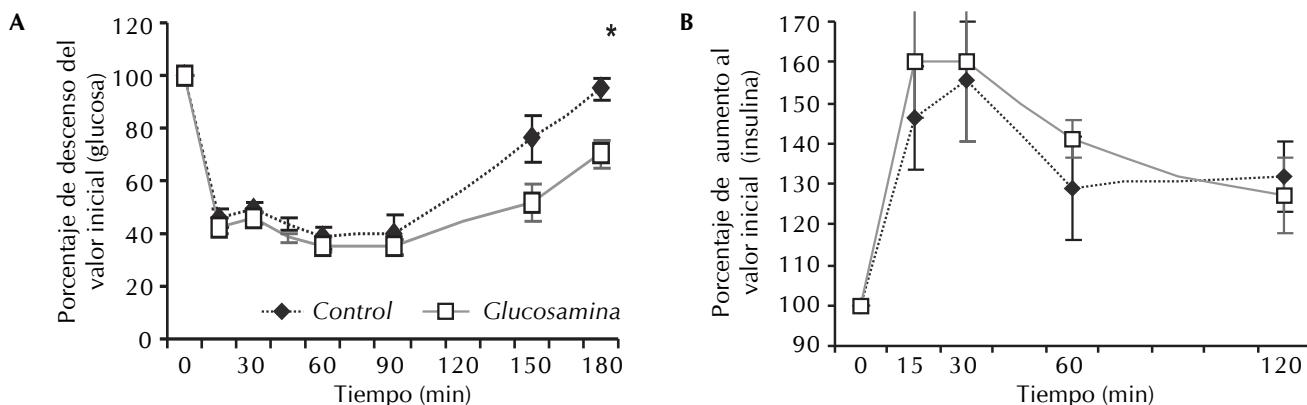


Figura 3. Curvas de tolerancia a la insulina (A), después de la administración de 0.75 UI de insulina vía intraperitoneal y porcentaje de aumento al valor inicial de insulina en plasma (B), después de la administración vía intraperitoneal de 3.5 g/kg de peso corporal de una solución al 35% de glucosa, de ratas gestantes con administración de 900 mg/kg de peso de glucosamina en el agua de beber ($n = 6$), durante 15 semanas. Media \pm error estándar. * $p < 0.05$.

Cuadro 1. Concentración de leptina y triglicéridos en plasma de ratas nulíparas ($n = 7$) y gestantes ($n = 6$), con administración de glucosamina en el agua de beber y controles al finalizar el tratamiento.

	Leptina (ng/mL)	Triglicéridos (mg/mL)	Leptina (ng/mL)	Triglicéridos (mg/mL)
Dosis	300 mg/kg de glucosamina	300 mg/kg de glucosamina	900 mg/kg de glucosamina	900 mg/kg de glucosamina
Control	6.01 + 1.078	101.45 + 8.356	4.94 + 0.151	75.83 + 4.593
Estudio	5.93 + 0.138	110.78 + 15.376	5.16 + 0.138	69.99 + 5.614

Media \pm error estándar.

sin que los valores salgan de los rangos normales de glucemias en ayuno (Figura 2), este comportamiento muestra los efectos que se pudieran presentar en los inicios de la resistencia a la insulina; es decir, tendencia a aumentar las glucemias conforme transcurre el tiempo de la administración de la glucosamina. Al comparar las curvas de tolerancia a la glucosa a los 60 y 120 min los valores elevados en los grupos estudio indican que se presenta una captación menos rápida de la glucosa por las células sensibles a ella, en comparación con el grupo control (Figura 2), los resultados de niveles de insulina con tendencia a aumentar ayudan a inferir que se requiere de una mayor secreción de ésta para normalizar los niveles de glucemia después de la administración de glucosa vía intraperitoneal (Figura 3). En la cual, posiblemente la VBH desensibiliza a la insulina, disminuyendo el transporte de glucosa a tejido adiposo y músculo, por la alteración en la disminución de la translocación de GLUT-4, y alteración en la secreción de insulina con infusión aguda de glucosamina en ratas y en ratones transgénicos,^{5,23} y la acumulación de sus metabolitos por su biosíntesis: glucosamina 6 fosfato y UDP-Glc-N-Ac, que

mimetizan un estado de hiperglucemia por aumentar el flujo de glucosa a través del camino de las hexosaminas, esta hiperglucemia provocada por la glucosamina exógena puede funcionar como un sensor en el metabolismo de la glucosa y ser responsable de la resistencia a la insulina,^{11,14,21} al igual que en estudios realizados con administración de ácidos grasos libres debido a una alteración en la actividad de la fosfatidilinositol-3 cinasa; alteración en la supresión de la salida hepática de glucosa por hiperglucemia, hiperinsulinemia, y alteraciones en la secreción de insulina con infusión aguda de glucosamina, misma situación que se ha identificado en la llamada glucosa tóxica.⁶ En la curva de tolerancia a la insulina, se observó una recuperación más lenta para alcanzar los niveles normales de glucemia en el grupo tratado con glucosamina 900 mg/kg al día, sugiriendo un efecto sobre la secreción de las hormonas contrarreguladoras, siendo ésta una respuesta que no contemplada, sino sólo observar el comportamiento en los primeros tiempos de la administración y mostrar si la resistencia a la insulina observada en las curvas de tolerancia es por falta de respuesta de las células hacia la insulina o en la secreción de

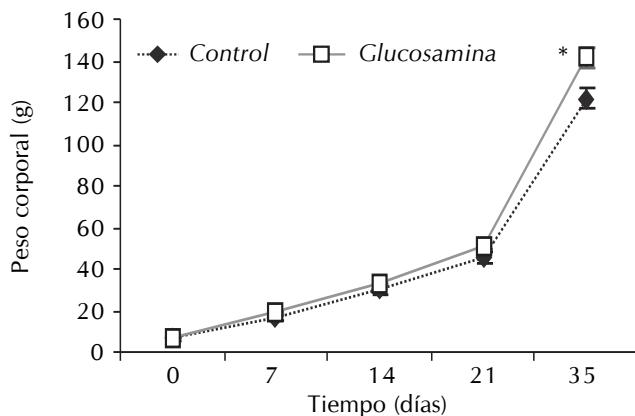


Figura 4. Aumento de peso de las crías en condiciones normales para los dos grupos de ratas gestantes, sin glucosamina o con 900 mg/kg de peso de glucosamina vía oral, desde el nacimiento y hasta los 35 días, el número de ratas para cada grupo fue de 7. * $p < 0.05$.

la misma, no existiendo diferencia significativa hasta los 180 min (Figura 3), es sabido que durante una hipoglucemia producida por perfusión de insulina la gluconeogénesis tiene mayor participación en la glucorregulación, siendo el principal factor para la prevención de una mayor caída de glucemia. En experimentos realizados mediante la perfusión controlada de insulina, bloqueando las hormonas contrarreguladoras para determinar la contribución de cada una a la contrarregulación, los autores concluyen que los efectos del glucagón sobre la producción hepática de glucosa no son transitorios y en caso de hipoglucemia las demás hormonas contrarreguladoras no logran compensar la falta de glucagón,²⁴ lo cual haría interesante el estudio de esta hormona junto con la administración de glucosamina. Las crías del grupo de madres en estudio no mostraron ningún efecto en la glucemia, el peso de las crías sólo hasta el día 35 de nacidos fue mayor, lo cual pudiera inferir cambios que aparezcan posteriormente a lo largo del desarrollo de las crías como suele ocurrir comúnmente en el desarrollo de la diabetes (Figura 4).

CONCLUSIONES

La glucosamina administrada diariamente por vía oral en dosis de 300 y 900 mg/kg de peso, durante once y quince semanas, no afectan la ingestión de alimento y el peso corporal ni alteran los niveles de leptina basales en plasma en ratas nulíparas, ni gestantes. No produce resistencia a la insulina en rata nulípara, ni gestante. Y las crías de ratas, cuyas madres recibieron glucosamina por vía oral en dosis de 900 mg/kg de peso, no presentaron ningún cambio en sus glucemias en ayuno, pero sí presumen un aumento en

su peso corporal mayor que las crías de ratas controles conforme al día 35 posparto.

Vínculo

Por las alteraciones de la glucemia provocada por la glucosamina administrada por vía y dosis habitual que se recomienda en el humano, se sugiere mayor control sobre su uso. La importancia es que esta sustancia se encuentra en el mercado sin ninguna especificación de precaución y a responsabilidad de quien lo consume, como es el caso del producto naturista con derivados de glucosamina.

REFERENCIAS

1. McAlindon TE, La valley MP, Gulin JP. Glucosamine and chondroitin for treatment of osteoarthritis. A systematic quality assessment and meta-analysis. *JAMA* 2000; 283: 1469-73.
2. Echard BW, Talput NA, Funk KA. Effects of oral glucosamine and chondroitin sulfate alone and in combination on the metabolism of SHR and SD rats. *Mol Cell Biochem* 2001; 225: 85-91.
3. Biggee BA, Blinn CM, Nuete M, Silbert JE, McAlindon TE. Effects of oral glucosamine sulphate on serum glucose and insulin during an oral glucose tolerance test of subjects with osteoarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2007; 66(2): 260-2.
4. Marshall S, Nadeau O, Yamasaki K. Dynamic actions of glucose and glucosamine on hexosamine biosynthesis in isolated adipocytes: differential effects on glucosamine 6-phosphate, UDP-N-acetylglucosamine, and ATP levels. *J Biol Chem* 2004; 279(34): 35313-9.
5. Calzada LR, Altamirano BN, Ruiz RM. Etiología de la diabetes mellitus tipo 2 en pediatría: evidencia en favor de la falla primaria de las células b. *Acta Pediatr Méx* 2002; 23: 154-9.
6. Hawkins M, Hu M, Yu J, Eder H, Vuguin P, She L, et al. Discordant effects of glucosamine on insulin-stimulated glucose metabolism and phosphatidylinositol 3-Kinase activity. *J Biol Chem* 1999; 274(44): 31312-19.
7. Marshall S, Nadeau O, Yamasaki K. Glucosamine-induced Activation of Glycogen Biosynthesis in Isolated Adipocytes. *J Biol Chem* 2005; 280(12): 11018-24.
8. Ravussin E. Cellular sensors of feast and famine. *J Clin Invest* 2002; 109: 1537-40.
9. Rossetti L. Perspective: hexosamines and nutrient sensing. *Endocrinology* 2000; 141: 1922-25.
10. Traxinger RR, Marshall S. Coordinate regulation of the glutamine: fructose-6-P aminotransferase activity by insulin, glucose and glutamine. *J Biol Chem* 1991; 266: 10148-54.
11. Kelley D, Mokan J, Simoneau A. Interaction between glucose and free fatty acid metabolism in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 1993; 92: 91-8.

12. Kieffer TJ, Séller RS, Habener JF. Leptin suppression of insulin secretion by activation of ATP-sensitive K⁺ channels in pancreatic beta cells. *Diabetes* 1997; 46: 1067-93.
13. Wang J, Lui R, Hawkins M, Barzilai N, Rossetti L. A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature* 1998; 393: 684-8.
14. Sakai K, Clemons DR. Glucosamine induces resistance to insulin-like growth factor I (IGF-I) and insulin in hep G2 cell cultures: biological significance of IGF-I/insulin hybrid receptors. *Endocrinology* 2003; 144: 2388-95.
15. Scroggie DA, Albright A, Harris MD. The effect of glucosamine-chondroitin supplementation on glycosylated hemoglobin levels in patients with type 2 diabetes mellitus: a placebo-controlled, double-blinded, randomized clinical trial. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1587-90.
16. Gelardi NL, Chung-Ja MC, William OH. Evaluation of insulin sensitivity in obese offspring of diabetic rats by hyperinsulinemic-euglycemic clamp technique. *Pediatric* 1991; 30: 40-4.
17. Masuzaki HM, Paterson J, Shinya H. A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science* 2001; 294: 2166-70.
18. Obici S, Rossetti L. Minireview: Nutrient sensing and regulation of insulin action and energy balance. *Endocrinology* 2003; 144: 5172-8.
19. Okabe Y, Sakata T, Fujimoto K. Differential mechanisms of feeding modulation induced by amino sugars in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 188: 23-9.
20. Considine RV, Cooksey RC, Williams LB. Hexosamines regulate leptin production in human subcutaneous adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3551-6.
21. Patti ME. Nutrient modulation of cellular insulin action. *Ann NY Acad Sci* 1999; 892: 187-203. Article first published online: 6 FEB 2006. DOI:10.1111/j.1749-6632.1999.tb07796.x
22. Sakai K, Clemons DR. Glucosamine induces resistance to insulin-like growth factor I (IGF-I) and insulin in hep G2 cell cultures: biological significance of IGF-I/insulin hybrid receptors. *Endocrinology* 2003; 144: 2388-95.
23. Monauni T, Zenti MG, Cretti A. Effect of glucosamine infusion on insulin secretion and insulin action in humans. *Diabetes* 2000; 49: 926-35.
24. Racotta PR. Metabolismo energético en el humano. 1a. Ed. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional; 2002.

Solicitud de sobretiros:**Dr. Cornelio Barrientos-Alvarado**

Departamento de Fisiología
Escuela Superior de Medicina
Instituto Politécnico Nacional
Plan de San Luis
Col. Santo Tomás
C.P. 11340, México, D.F.
Correo electrónico
cornelio_barrientos@yahoo.com.mx