

# EFFECTOS DEL EJERCICIO SOBRE LOS MECANISMOS CELULARES PARA LA CAPTACIÓN DE GLUCOSA EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO\*

Arnulfo Ramos-Jiménez<sup>1†</sup>, Rosa P. Hernández-Torres<sup>2</sup>, Abraham Wall-Medrano<sup>2</sup>, Patricia V. Torres-Durán<sup>3</sup>, Marco A. Juárez-Oropeza<sup>3</sup>

## RESUMEN

El transportador de glucosa GLUT-4 es la principal isoforma que se expresa en el músculo esquelético y es translocado desde su localización intracelular a la membrana plasmática y los túbulos T. La translocación del GLUT-4, regulada por la insulina y el ejercicio, es el principal mecanismo por el que aumenta el transporte de glucosa al músculo esquelético. Se almacena intracelularmente en pequeños orgánulos vesiculares y por activación de diversos mecanismos intracelulares (la mayoría desconocidos) estas vesículas son translocadas hacia la membrana plasmática, para posteriormente por medio de exocitosis integrar los transportadores (GLUT-4) en la membrana plasmática, permitiendo con ello la captación de glucosa. En este trabajo se presentarán diversos mecanismos que permiten que los GLUT-4 incrementen su concentración intracelular, se transloquen e integren en la membrana sarcoplásmica y permitan la captación de glucosa. Asimismo, se mencionarán los mecanismos que son activados por el ejercicio físico en estos procesos.

**PALABRAS CLAVE:** GLUTs, transportadores de glucosa, contracción muscular, óxido nítrico,  $\text{Ca}^{2+}$ .

## ABSTRACT

GLUT-4 is the major glucose transporter-isoform, expressed in skeletal muscle, and it is translocated from the intracellular location to the plasma membrane and T tubules. Translocation of GLUT-4 is the principal mechanism through both, insulin and exercise, increase skeletal muscle glucose-transport. GLUT-4 settles intracellular in small-vesicle pool and by the activation of diverse intracellular mechanisms (the majority unknown), these vesicles are translocated to the cytoplasmic membrane, and by exocytosis the glucose transporters (GLUT-4) are integrated into cellular membrane, allowing the glucose uptake. In this work, are described diverse mechanisms that permit the GLUT-4 to increase its intracellular concentrations, translocating to the sarcoplasm, and settle in the membrane and to promote the glucose uptake. In addition, it will be mentioned the mechanisms activated by the exercise in these processes.

**KEY WORDS:** GLUTs, glucose transporters, muscle contraction, nitric oxide,  $\text{Ca}^{2+}$ .

## INTRODUCCIÓN

Los mecanismos detallados para la captación de glucosa a nivel celular, aún se desconocen, y en ellos intervienen varios procesos llamados cascadas de señalización intracelular. En estas cascadas de señalización, diversas proteínas interactúan activando

vías específicas e inhibiendo otras, dando como resultado final el paso de la glucosa hacia el citoplasma celular y su posterior fosforilación. El balance hormonal para la captación celular de glucosa en estado de reposo, es regulado por la insulina y el glucagón; la primera con efectos anabólicos so-

bre la glucosa, aumentando su captación y almacenamiento y la segunda catabólica, produciendo su movilización de su lugar de almacenamiento hacia la corriente sanguínea. La captación de la glucosa por el músculo esquelético está regulada por tres factores: la concentración o disponibili-

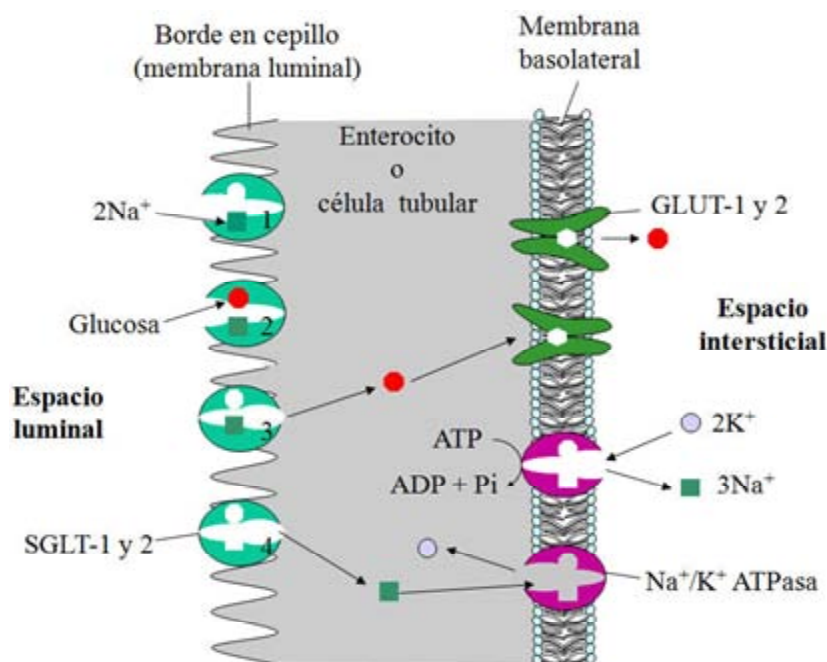
\*Recibido: 23 de abril de 2009 Aceptado: 4 octubre de 2009

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Básicas, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez, México. Correo E: arnulforaji@yahoo.com, tel. 656 6881800 ext. 5103. <sup>2</sup>Facultad de Educación Física y Ciencias del Deporte, Universidad Autónoma de Chihuahua, Ciudad Juárez, México. <sup>3</sup>Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. <sup>†</sup> Autor de correspondencia.

dad de glucosa en sangre, la permeabilidad de la membrana para transportar la glucosa al interior de la célula y los mecanismos intracelulares para almacenarla como glucógeno u oxidarla para producir energía. Durante el ejercicio, el flujo sanguíneo puede aumentar hasta 20 veces (1), favoreciendo con ello la disponibilidad de la glucosa y su captación por la célula. Asimismo durante el ejercicio, la permeabilidad y transporte de la glucosa al interior de la sarcómera se incrementan con la fuerza de la contracción y la intensidad del ejercicio que se esté realizando (2). Por último, una vez que la glucosa se encuentra dentro de la célula muscular, es fosforilada irreversiblemente por la hexocinasa, y su utilización como sustrato energético se incrementa proporcionalmente a la intensidad del ejercicio (3).

### ¿Cuáles son las características y funciones de los transportadores de glucosa?

El transporte de los monosacáridos a través de la membrana celular, es llevado a cabo por dos familias de proteínas, funcional y estructuralmente distintas. Las primeras, conocidas como SGLTs y cuyo gen es identificado por el símbolo SLC5A, son co-transportadores de glucosa, galactosa y manosa dependientes de  $\text{Na}^+$  (Fig. 1) y se encuentran acoplados a la ATPasa  $\text{Na}^+-\text{K}^+$  (4). De este primer co-transportador se han identificado 6 isoformas, pero solo a 2 de ellas se les conoce plenamente su función (SGLT-1 y 2) (5); esto es, se encargan de la absorción de la glucosa en el intestino delgado y en los túbulos renales en contra de su gradiente de concentración, utilizando para ello el gradiente electroquímico del  $\text{Na}^+$  creado por la ATPasa  $\text{Na}^+-\text{K}^+$  (6). El SGLT-1 se encuentra principalmente en las membranas apicales del enterocito y en los túbulos proximales del riñón (células



**Figura 1.** Sistema de transporte de glucosa a través del enterocito y túbulos renales. La glucosa es introducida desde la luz intestinal y tubular al interior del enterocito y célula tubular por los transportadores de glucosa dependientes de  $\text{Na}^+$ , SGLT-1 y SGLT-2: 1) unión de dos  $\text{Na}^+$  al co-transportador; 2) Esto produce cambios en la conformación del SGLT-1 que permite la unión de una molécula de glucosa; 3) Luego ocurre una re-organización estructural que lleva el  $\text{Na}^+$  y la glucosa hacia la cara citosólica del transportador, para finalmente liberar primero la molécula de glucosa y 4) Los dos  $\text{Na}^+$  hacia el citosol. Posteriormente, la glucosa es transportada hacia el líquido intersticial por los GLUT-1 y GLUT-2, y el  $\text{Na}^+$ , por la proteína  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa.

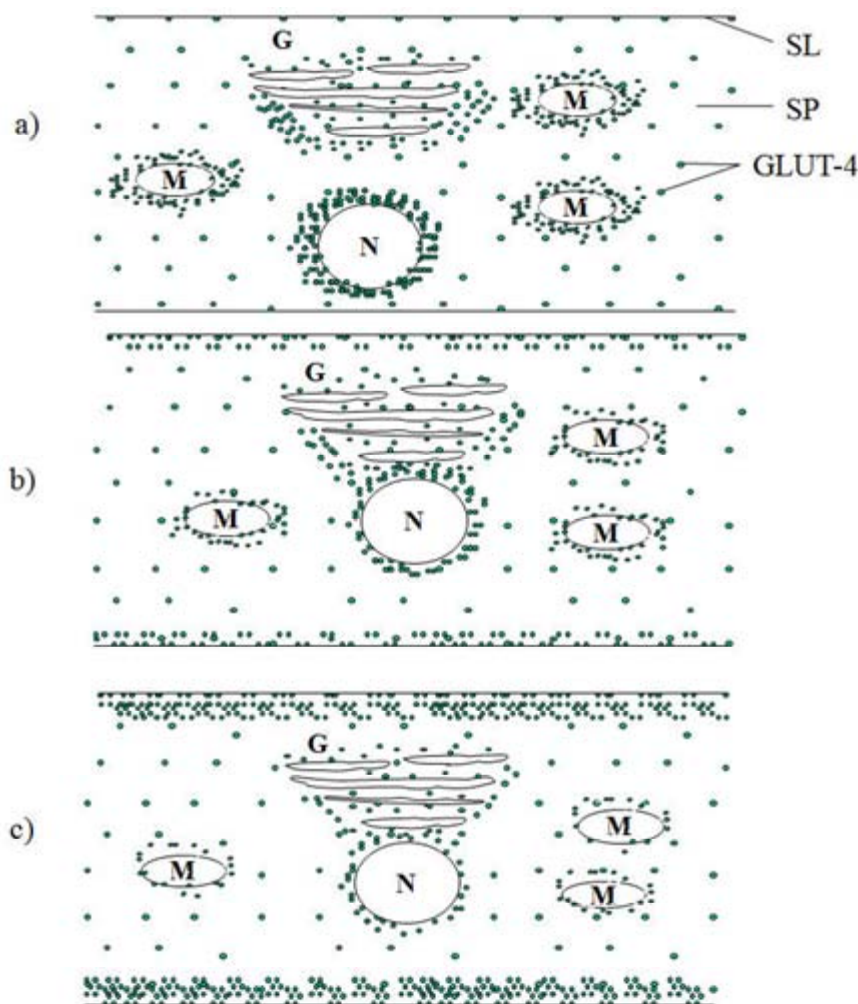
S3) y es el principal transportador en estos sitios. En cambio el SGLT-2 con menor afinidad que el SGLT-1 a los monosacáridos que transporta, se expresa de forma predominante en los túbulos contorneados proximales del riñón (células S1 y S2) (4).

La segunda familia, conocida como GLUTs y cuyo gen es identificado con el símbolo SLC2A, son transportadores de monosacáridos que funcionan por difusión facilitada; de éstos se han identificado 13 isoformas funcionales, GLUT-1 a GLUT-12 y HMIT (cotransportador de  $\text{H}^+/\text{myo-inositol}$ ) (4, 6). Con base en el análisis filogenético de homologías en su secuencia primaria, la familia de los GLUTs se ha dividido en 3 subfamilias (de clase I, II y III), las cuales se representan en una figura llamada

dendrograma, que refleja el grado de diferencia entre las secuencias (4).

De acuerdo con el objetivo del presente trabajo y debido a que el GLUT-4 es la isoforma principalmente expresada en el músculo esquelético y que ésta es regulada por la contracción muscular, nos referiremos a los transportadores de la clase I, que incluye a los GLUTs 1-4.

Los GLUT-1 y GLUT-3 son los principales transportadores de glucosa en estado basal y se encuentran en múltiples tejidos, incluyendo células neuronales, astrocitos, tejido adiposo y muscular (6). Los GLUT-2 están presentes en el enterocito, riñones y principalmente en células hepáticas y  $\beta$  pancreáticas. La función de los GLUT-1 y GLUT-2, en la absorción intestinal y filtrado glomerular de



**Figura 2.** Representación esquemática del reclutamiento de los GLUT-4 hacia la membrana plasmática de las células musculares, sujetas a estimulación por insulina y por ejercicio. a) Los GLUT-4 en estado basal se encuentran distribuidos en toda la célula; principalmente cercanos al núcleo, al aparato de Golgi y las mitocondrias. b) Bajo estimulación por la insulina o por el ejercicio, c) o de ambos, los GLUT-4 se van translocando hacia la membrana y disminuyendo de los lugares de almacenamiento citoplasmático. N = núcleo, M = mitocondria, G = aparato de Golgi, SL = Sarcolema, SP = sarcoplasma. Modificado de Ploug y cols. (14).

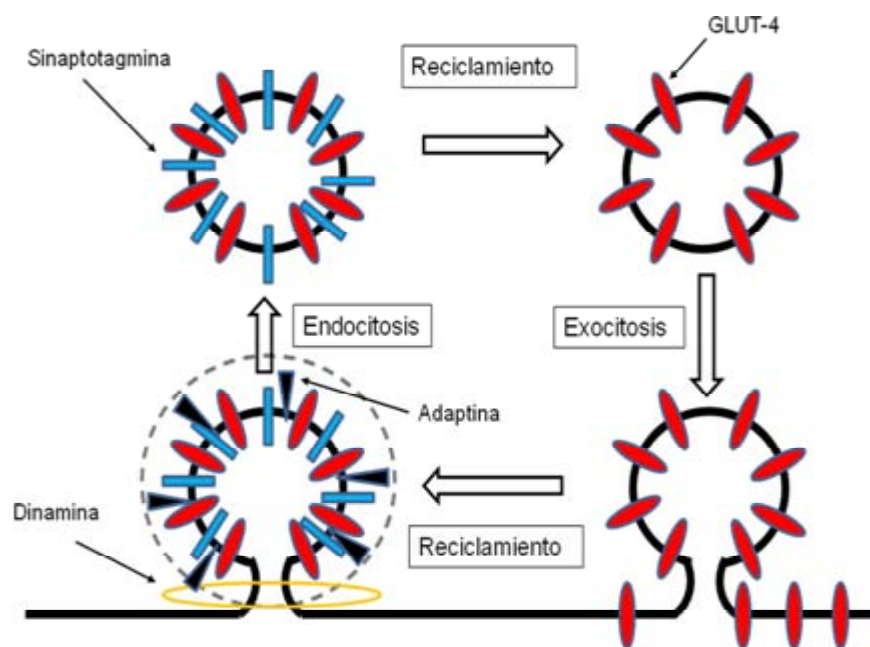
glucosa, parece estar coordinada con los SGLT, pues mientras éstos últimos transportan la glucosa desde la luz intestinal y la luz tubular hacia el interior del enterocito y célula tubular, los GLUT-1 y GLUT-2 transportan la glucosa hacia el espacio intersticial (Fig. 1). A los GLUT-2 se les relaciona también con la regulación de la secreción de insulina estimulada por la glucosa (6). Los GLUT-3 tienen una gran afinidad por la glucosa y esto es consistente con su presencia en tejidos en los que la

demanda de glucosa como combustible es muy importante, en especial en el cerebro (4, 6).

El GLUT-4 se encuentra principalmente en los tejidos sensibles a la insulina como son, músculo y adipocito (7, 8) y son la única isoforma regulada, además de por la insulina, por la contracción muscular (7-9). La mayoría de los GLUT-4 se depositan intracelularmente en pequeños orgánulos vesiculares, sensibles a la insulina y al ejercicio (Fig. 2) (8, 9). Por activación de diversos mecanis-

mos intracelulares (que se describirán adelante), las vesículas son translocadas hacia la membrana plasmática de la célula, y por procesos de endocitosis-exocitosis los GLUT-4 son reciclados continuamente del citoplasma a la membrana celular y viceversa (Fig. 3), permitiendo con ello regular el número de transportadores presentes en la membrana plasmática para la captación de glucosa. Se ha encontrado que dichos orgánulos vesiculares contienen diversas proteínas, entre ellas la aminopeptidasa sensible a la insulina (IRAP), la sortilina, el receptor de transferrina (TfR; marcador de endosomas), el receptor del factor de crecimiento II/manosa 6-fosfato (IFGII/mGF), las proteínas de membrana asociadas con componentes de secreción (SCAMPs) y las proteínas de membrana asociadas a vesículas (VAMPs), los cuales se ha encontrado que se translocan hacia la membrana celular junto con los GLUT-4 (10). Ploug y cols., en 1998 (9), en su estudio sobre la detección de GLUT-4 en el músculo esquelético de rata, encontraron que las vesículas que tienen integrados los GLUT-4, se distribuyen en diferentes compartimentos, formando lo que ellos nombran depósitos grandes y depósitos pequeños. Ambos cúmulos fueron localizados, tanto cerca del sarcolema (justo por debajo de ésta), como en el centro de la célula (cercanos al núcleo, aparato de Golgi y mitocondrias). En el estado basal, estos depósitos son excluidos de la cercanía del sarcolema y se distribuyen en diferentes partes del citoplasma (Fig. 2). La insulina y las contracciones musculares, al estimular la translocación de las vesículas que tienen integrados los GLUT-4 hacia la membrana celular, producen su disminución en los lugares de almacenamiento intracelular (9). La translocación de las vesículas portadoras de GLUT-4 hacia la membrana





**Figura 3.** Representación esquemática del mecanismo de endocitosis y exocitosis de los GLUT-4. Posterior a la estimulación para la translocación de los GLUT-4 (óvalo rojo) hacia la membrana plasmática, los GLUT-4 son invaginados por las moléculas de clatrina (línea discontinua negra). Esto ocurre presumiblemente a través de la interacción de los GLUT-4 con moléculas de sinaptotagmina (rectángulo azul) y adaptinas (triángulo negro). Para el proceso de invaginación se requiere la formación del collar de GTPasas dinaminas (línea naranja o punteada). Una vez invaginados los GLUT-4 y formadas las vesículas, estas últimas rápidamente pierden su estructura de clatrina y adaptinas, para luego estar listas hacia un nuevo reciclamiento o empaquetamiento en sus lugares de almacenamiento. Tomado de Pessin y cols. (12)

celular parece depender, entre otros factores, del tipo de isoforma del marcador endosomal TfR, en donde las vesículas cargadas con el elemento positivo de TfR solo son estimuladas por la contracción, mientras que los del elemento negativo, por la insulina (9). La disminución (down-regulation) de la translocación hacia la membrana de los GLUT-4, así como de sus concentraciones intracelulares, da como resultado un estado de resistencia a la insulina (11). Por el contrario, el incremento de la sensibilidad a la insulina es mediada por el aumento en la translocación de los GLUT-4 hacia la membrana plasmática (12).

### ¿Cómo se relacionan el ejercicio y la cantidad de glucógeno muscular con los GLUT-4?

El RNAm de GLUT-4 y su traducción, se ven estimulados de forma indepen-

diente por la ingesta de alimentos, el ejercicio y el ayuno (13). La ingesta de alimentos y el ejercicio, al estimular ambos de manera individual la translocación de los GLUT-4 a la membrana celular, incrementan de una manera sumatoria el glucógeno en la célula muscular. En el experimento de Kuo y cols., (13) se estudiaron músculos gastronemios de ratas sometidas a ejercicio, ayuno y alimentación, y se observó además una relación directa entre el aumento de la concentración total de GLUT-4 y el aumento en la concentración de glucógeno muscular. Además, los músculos ejercitados físicamente, concentran más glucógeno y GLUT-4 que los no ejercitados; asimismo, los músculos con mayor capacidad oxidativa (fibras rojas) concentran más que los glucolíticos (fibras blancas). En otros experimentos, igualmente en músculos gastronemios de

ratas se observa, que a mayor disminución del glucógeno muscular posterior al ejercicio, ayuno, electro-estimulación o dieta baja en carbohidratos, la concentración de GLUT-4 encontrada en el sarcolema fue mayor, y por lo tanto mayor la captación de glucosa posterior a la ingesta de alimentos (14, 15). En estudios con seres humanos sanos se encuentran resultados semejantes, ya que cuando se aplica un entrenamiento de tipo intensivo en una pierna y de mantenimiento en la otra, el contenido de GLUT-4, así como la captación de glucosa aumentan de forma aguda mayormente en la pierna ejercitada (16); por lo que el grado de entrenamiento parece participar directamente en la sobre-compensación de glucógeno, concentraciones de GLUT-4 y captación de glucosa muscular. Por lo anterior, a mayores demandas de energía que provoquen la utilización y disminución del glucógeno muscular, hay una mayor tendencia a la sobre-compensación, por lo que la célula aumenta la transcripción y traducción de GLUT-4, así como de su translocación hacia la membrana celular, lo que lleva a un aumento en sus reservas de glucosa.

### ¿Qué tipo de fibras musculares expresan el transportador GLUT-4?

Como se mencionó arriba, la expresión de GLUT-4 en músculo esquelético también se relaciona con la naturaleza metabólica del tipo de fibra, en donde las fibras oxidativas parecen expresarlo más que las glucolíticas. En particular, Derave (15) encontró que antes y posterior a la contracción por estimulación eléctrica, las fibras rojas captaron más glucosa que las fibras blancas. Por otro lado, Kuo (13) reportó que la concentración de glucógeno fue más alta en las fibras rojas que en las blancas, tanto en el músculo en reposo como posterior al ejercicio.

### ¿Cómo llegan a la membrana celular los transportadores GLUT-4?

El proceso de translocación y reciclamiento de los GLUT-4, del interior de célula a la membrana celular, se lleva a cabo por mecanismos vesiculares de exocitosis y endocitosis (Fig. 3), en los cuales el ejercicio y la insulina, además de aumentar la translocación de las vesículas (endosomas) portadoras de GLUT-4, parecen aumentar la exocitosis y disminuir la endocitosis de estas vesículas (7, 8, 17). Ploug (9) observó, que la insulina incrementa la concentración de GLUT-4 en la membrana celular y los túbulos T entre 7 y 15 veces respectivamente; de igual manera, la contracción muscular aumenta la concentración entre 9 y 20 veces respectivamente; y combinados insulina y contracción muscular lo incrementa entre 14 y 30 veces, indicando que el efecto de insulina y ejercicio puede ser aditivo. De allí que las personas con diabetes mellitus que requieren dosis constantes de insulina exógena, al someterse a programas de ejercicio, deben de modificar dichas dosis y ajustarse a nuevos horarios de administración insulínica, para no caer en problemas de hipoglucemia.

Si bien el proceso de translocación de los GLUT-4 aun se desconoce, se sabe que en la formación, transporte y fusión en la membrana de las vesículas que portan GLUT-4 participan varias proteínas; como la GTPasa RAB-4, la aminopeptidasa gp160 y las proteínas de membrana asociadas a vesículas tipo 2 y 3 (VAMP-2 y VAMP-3), pues se ha observado que tanto el ejercicio como la insulina aumentan dichas proteínas en la membrana plasmática (17, 18). Asimismo, el ejercicio al activar diversas proteínas, como la glucógeno sintasa (Gs), proteína cinasa B (PKB), cinasa 3 de fosfatidil inositol (PI-3K), proteína cinasa activada por 5'-AMP (AMPK),

y proteína cinasa C (PKCs), entre otras, puede inducir cascadas de señalización intramuscular (17, 19) y por lo tanto activar la translocación de los GLUT-4 hacia la membrana plasmática.

### ¿Cómo participa la insulina en la translocación de los GLUT-4?

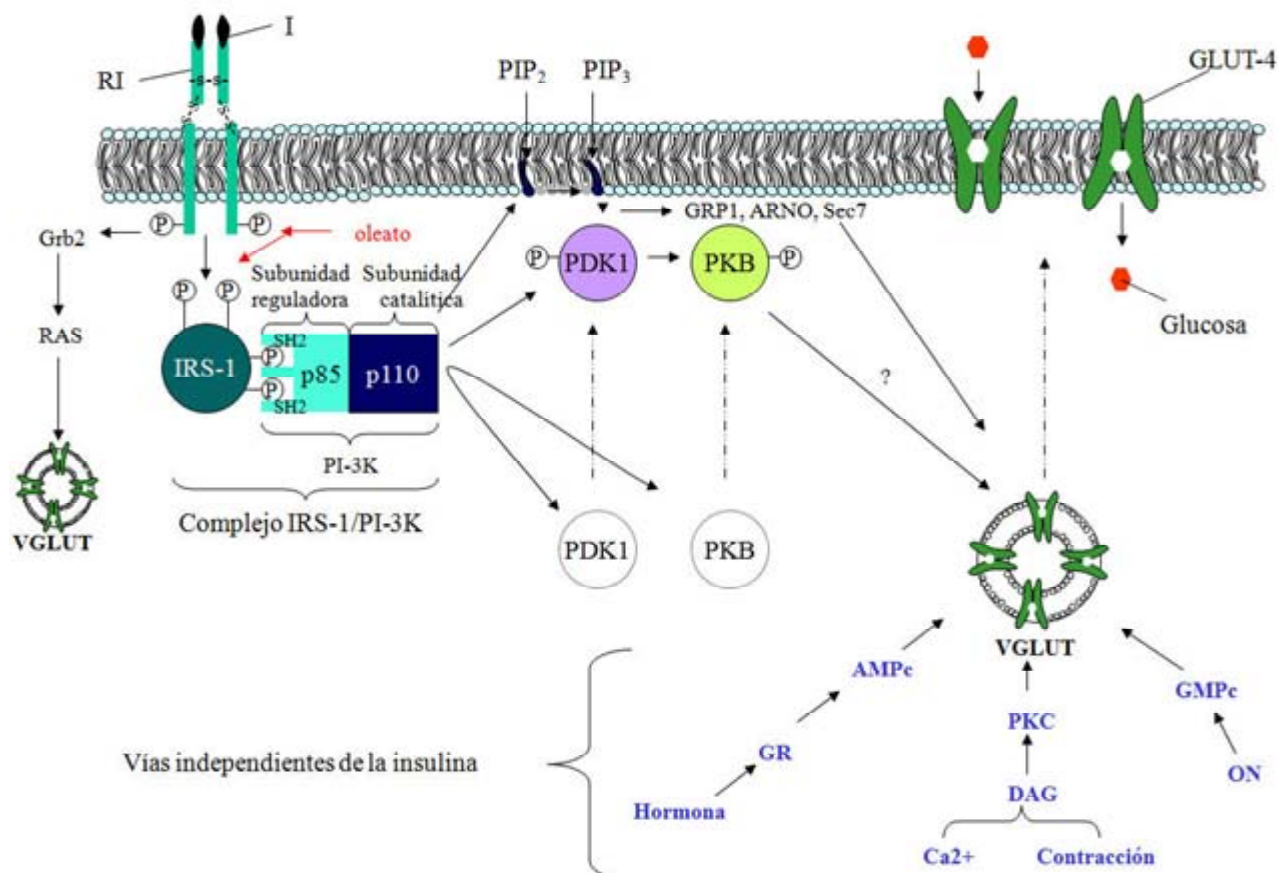
Los mecanismos celulares que activa o inactiva la insulina, se producen primeramente con la unión de ésta a su receptor en la membrana plasmática. Dicha unión permite la autofosforilación submembranar del receptor de la insulina (RI) y posteriormente la fosforilación y activación de diversas cascadas de señalización intracelular. El proceso completo se desconoce; sin embargo, la cascada hacia abajo para la captación de glucosa y que involucra a la insulina, se produce por la fosforilación del sustrato-1 del receptor de insulina (IRS-1) mediante el RI ya fosforilado (Fig. 4). El IRS-1 activa a la cinasa 3 del fosfatidil inositol (PI-3K) y ésta última activa los siguientes mecanismos: a) Fosforila en la superficie de la célula al fosfatidil inositol 4-fosfato (PI 4-P) y fosfatidil inositol-4,5-bisfosfato (PI 4,5-P<sub>2</sub>) produciendo fosfatidil inositol 3,4-bisfosfato (PI 3,4-P<sub>2</sub>) y fosfatidil inositol 3,4,5-trisfosfato (PI 3,4,5-P<sub>3</sub>), respectivamente. b) Favorece la translocación hacia la superficie de la célula de la proteína cinasa 1 dependiente de fosfatidil inositol (PIDK-1) y de la PKB. En la superficie de la membrana, el PI 3,4-P<sub>2</sub> y PI 3,4,5-P<sub>3</sub>, probablemente en unión con la PI-3K, activan a la PIDK-1 y esta última a la PKB. Finalmente, la PI-3K y/o con la participación de la PKB y otras proteínas de la misma cascada de señalización de la insulina, por mecanismos aún desconocidos, aumenta la translocación de GLUT-1 y GLUT-4 (20) hacia la membrana plasmática.

### ¿De qué manera las contracciones musculares aumentan la captación de la glucosa?

Uno de los mecanismos que actualmente se están estudiando para explicar cómo la contracciones musculares, ya sea producidas por estimulación eléctrica o por el ejercicio, aumentan la captación de glucosa en el músculo, es el transporte de glucosa activado por la AMPK y la proteína cinasa 1 dependiente de Ca<sup>2+</sup>/Calmodulina (CaMK1) (21-24) (Fig. 5). El mecanismo se puede describir por los siguientes pasos: 1) Las contracciones musculares aumentan tanto la relación AMP/ATP, como las concentraciones de Ca<sup>2+</sup>/calmodulina; 2) Por un lado, el 5'-AMP activa tanto a la cinasa de la AMPK (AMPKK) como a la AMPK, y por otro lado, el aumento del Ca<sup>2+</sup> y del complejo Ca<sup>2+</sup>/calmodulina citoplásmicos, activan a la CaMK1K (se sugiere que la AMPKK y CaMK1K puedan ser la misma enzima); 3) tanto el 5'-AMP como el AMPKK y CaMK1K activan a la AMPK; 4) La AMPK aumenta la transcripción de GLUT-4 y la hexocinasa y por mecanismos aún desconocidos, la translocación de GLUT-4; 5) Finalmente, el aumento en la transcripción de GLUT-4, de la hexocinasa y de la translocación de GLUT-4, dan como resultado el incremento en el transporte y fosforilación de la glucosa.

### ¿Cuál es el papel del Ca<sup>2+</sup> en los mecanismos de señalización para el transporte de glucosa?

Se ha observado que el Ca<sup>2+</sup> liberado del retículo sarcoplásmico y mitocondrias, ya sea por la contracción muscular, hipoxia, incremento en el fósforo inorgánico (Pi) o por la presencia de algunas sustancias como la cafeína, influye en forma directa (unión y fusión de vesículas a la membrana celular), o indirecta (a través de la activación de PI-3K o de alguna



**Figura 4.** Mecanismos de activación para la captación de glucosa. El receptor de insulina (RI) se autofosforila al unirse a la insulina (I) y permite la fosforilación de varias proteínas, entre ellas el sustrato-1 del receptor de insulina (IRS-1) y Grb2. El IRS-1 se une al fosfatidil inositol 3 cinasa (PI-3K), el cual al fosforilarse acciona tres mecanismos: a) fosforila al fosfatidil inositol 4,5 bisfosfato (PIP<sub>2</sub>), convirtiéndolo en fosfatidil inositol 3,4,5 trisfosfato (PIP<sub>3</sub>) b) fosforila a la cinasa 1 dependiente de fosfatidil inositol (PDK1) y c) favorece la translocación de PDK1 y proteína cinasa B (PKB) hacia la membrana celular. La PDK1 cercana a la membrana celular y probablemente en unión con la PIP<sub>3</sub> fosforila a la PKB y esta última por mecanismos aún no conocidos (?) participa en la translocación de las vesículas que contienen GLUT-4 (VGLUT) hacia la membrana celular. La fosforilación de Grb2 permite la activación de RAS y una posterior translocación de VGLUT. Los fosfoinosítoles permiten la activación de GRP1, ARNO y Sec7 a nivel de la membrana y estos últimos la translocación de VGLUT. La PI-3K fosforilada activa a la ARF y esta última la translocación de VGLUT. Existen además otras vías independientes de la insulina (letras color azul en esquina inferior derecha) para la translocación de VGLUTs, como son las activadas por la contracción muscular, la producción de óxido nítrico (ON) y otros factores hormonales que activan a las proteínas G (GR). Algunos de las anteriores producirán segundos mensajeros (AMPc, GMPc y DAG) y AMP, dando como resultado la activación de diversas proteínas (AMPK y PKC entre otras) las cuales favorecerán la translocación de VGLUT. SH2 = dominios con alta afinidad hacia residuos de fosfotirosina, -S-S- = puentes disulfuro. Modificada de Díaz Zagoya JC y Juárez Oropeza MA. Bioquímica: Un enfoque básico aplicado a las ciencias de la vida. Ed. McGraw-Hill, 2008.

isoforma de la PKC) en la activación y translocación de las vesículas portadoras de GLUT-4 y la captación de glucosa (17, 25) (Fig. 6). De los estudios anteriores se sugiere que el Ca<sup>2+</sup>, a través de la estimulación de PKC, PI-3K o por otras vías, activa la síntesis y translocación del GLUT-4, aumentando la captación de glucosa. Asimismo, Whitehead y cols., (26) en células de preadipocito 3T3-L1, observaron que la exclusión del Ca<sup>2+</sup> del

buffer extracelular produce una disminución de 30% en la captación de glucosa. El quelante de Ca<sup>2+</sup>, BAPTA-AM, inhibe la translocación y fusión con la membrana celular, de las vesículas portadoras de GLUT-4. El W13, antagonista de la calmodulina, inhibe en un 60% la captación de glucosa. Lo anterior nos dice que, en los preadipocitos 3T3-L1, el Ca<sup>2+</sup> también participa en la activación de enzimas como las PKB, PKC, PI-3K

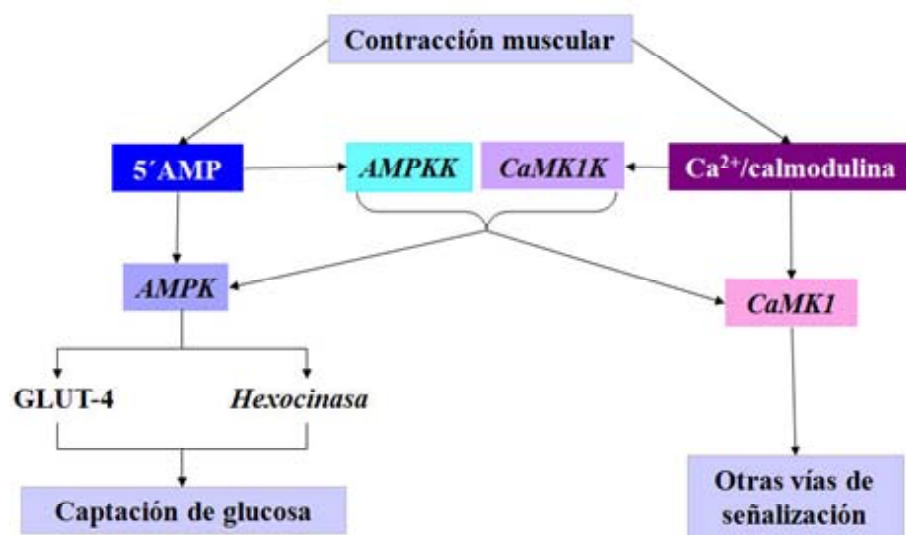
y complejo Ca<sup>2+</sup>/calmodulina, las cuales producen la translocación, unión y fusión de las vesículas portadoras de GLUT-4 con la membrana plasmática.

### ¿Cómo participa el óxido nítrico en el transporte de la glucosa?

La captación de glucosa estimulada por el estrés mecánico, la contracción e isquemia, puede ser regulada por mecanismos locales paracrin y

autocrinos; en donde la participación de la PKC y la óxido nítrico sintasa (ONS) se han visto involucradas, aunque el papel de esta última en el músculo esquelético aún no se ha comprobado (27). Se han identificado tres isoformas de ONS en músculo esquelético (28): la neuronal (ONS<sub>n</sub>), la endotelial (ONS<sub>e</sub>) y la inducible (ONS<sub>i</sub>), en donde esta última se expresa mayormente durante el ejercicio (29); asimismo, es la que sintetiza mayor cantidad de óxido nítrico (ON) durante la contracción muscular (28). La ONS, es regulada por la contracción, la insulina, el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) y el monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) (27, 30) (Fig. 6). El ON es un potente vasodilatador que ha demostrado aumentar el flujo sanguíneo, además de estimular la síntesis de GLUT-4 y promover el transporte de glucosa en el músculo esquelético (31, 32). Uno

de los mecanismos propuestos, por el que el ON aumenta el transporte de glucosa, es a través de la activación de la AMPK (32). El ON puede ser liberado por el endotelio vascular a través de estimulación colinérgica-muscarínica y el estrés mecánico; también puede ser formado por la hemoglobina a través de la caída de la saturación de oxígeno, en donde el ejercicio al provocar estrés mecánico y la caída de saturación de O<sub>2</sub> favorece la síntesis/liberación de ON (27, 30). Resumiendo, podemos decir que el efecto del ON sobre el tejido muscular es aumentar la vasodilatación, la sensibilidad a la insulina y la captación de glucosa. En donde a mayor sensibilidad a la insulina, mayor la vasodilatación y mayor la captación de glucosa. De tal manera, que en los sujetos resistentes a la insulina, la captación de glucosa se ve disminuida.



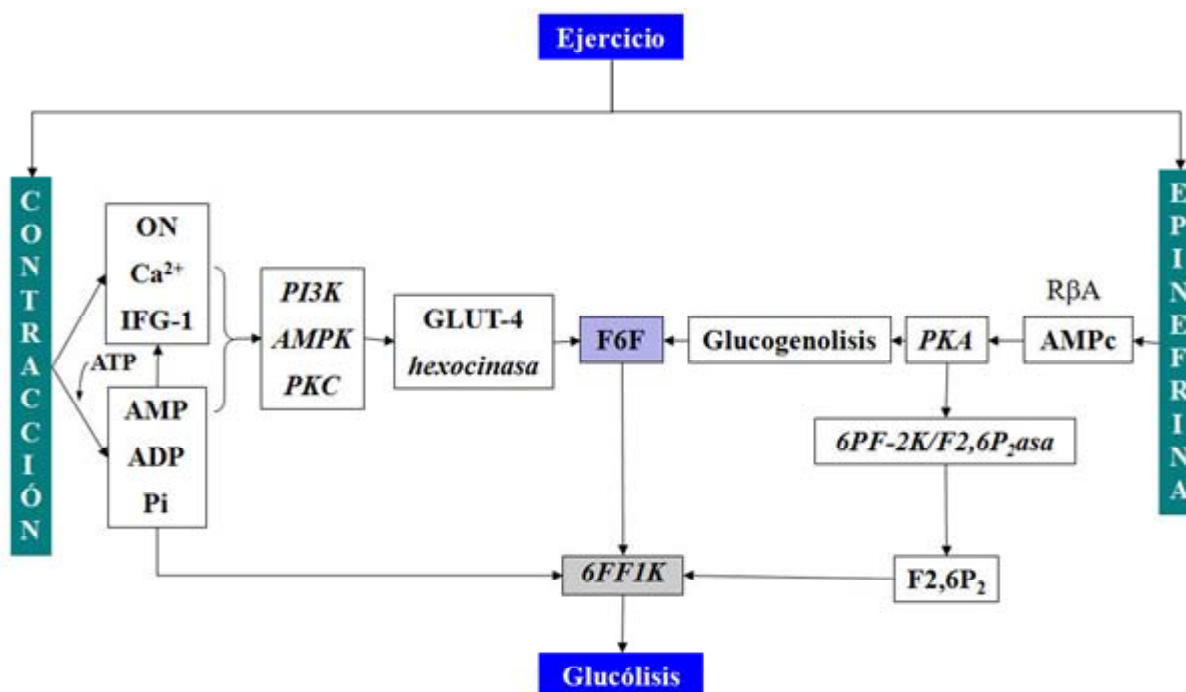
**Figura 5.** Vías de señalización del 5'AMP y Ca<sup>2+</sup>/calmodulina producidos por la contracción muscular, para la captación de glucosa. Las contracciones musculares aumentan las concentraciones citoplásmicas de AMP y Ca<sup>2+</sup>/calmodulina. El AMP activa a la proteína cinasa activada por AMP (AMPK) y a la proteína cinasa activada por AMPK (AMPKK). El Ca<sup>2+</sup>/calmodulina activa a la proteína cinasa 1 dependiente de Ca<sup>2+</sup>/calmodulina (CaMK1) y a la proteína cinasa activada por CaMK1 (CaMK1K). El AMPK aumenta la transcripción de GLUT-4 y de hexocinasa, y por mecanismos aún no conocidos la translocación de GLUT-4 hacia la membrana. El aumento en la transcripción de GLUT-4 y de hexocinasa, como en la translocación de GLUT-4, dan como resultado la captación de glucosa.

### Modificación de la concentración de glucosa por las catecolaminas y el glucagon durante el ejercicio

Además de los procesos anteriormente mencionados para la captación de glucosa muscular por el ejercicio, se encuentra también la acción adrenérgica. Durante el ejercicio físico, y conforme la intensidad y demanda de energía aumentan, hay una elevación en las concentraciones plasmáticas de epinefrina y glucagon, favoreciendo la activación de la proteína cinasa activada por AMPc (PKA) y la fosfofructocinasa (6FF1K), por lo que el músculo eleva la glucogenólisis y glucólisis para la utilización y oxidación de la glucosa; asimismo, el hepatocito eleva la glucogenólisis, liberando glucosa para su posterior captación por las células que lo requieren (Fig. 6) (33, 34). Estudios *in vitro* e *in vivo* han mostrado que si bien la epinefrina no disminuye el transporte de glucosa por el músculo esquelético, parece disminuir su acumulación, probablemente por disminuir la actividad de la hexocinasa (1). Estudios en triatletas sometidos a ejercicio al 71% del VO<sub>2</sub>max, con y sin infusiones de epinefrina, mostraron que durante el ejercicio, la epinefrina estimula la glucólisis intramuscular, disminuyendo la concentración de glucógeno muscular en comparación con sus controles sin epinefrina (35).

La estimulación adrenérgica para la producción de glucosa hepática (PGH) durante el ejercicio puede no ser muy importante, Coker y cols., en 1997 (36), observaron en perros que el aumento en las concentraciones de catecolaminas, producto del ejercicio, se ve acompañada de un aumento en la concentración de glucagon arterial y PGH. No obstante, la infusión de bloqueadores  $\alpha$  y  $\beta$  adrenérgicos (1 y 2  $\mu$ g/kg/min de propanolol y fentolamina, respectivamente) no modificaron durante el ejercicio, ni la concentración de glucosa arterial ni la





**Figura 6.** Mecanismos de señalización propuestos y derivados del ejercicio, para la captación de glucosa en músculo y activación de la glucólisis muscular. El ejercicio físico estimula la glucólisis por dos vías diferentes. La primera vía es activada por mecanismos localizados en los sitios de la contracción, los cuales son llamados paracrinos y autocrinos, y la segunda vía es activada endocrinamente por la epinefrina. En la primera vía, las contracciones musculares producidas por el ejercicio, conjuntamente con los adenín nucleótidos (AMP y ADP) y Pi (liberados por la hidrólisis del ATP), liberan localmente óxido nítrico (ON),  $\text{Ca}^{2+}$  e IFG-1. Tanto los adenín nucleótidos como Pi, ON,  $\text{Ca}^{2+}$  e IFG-1, activan a las cinasas PI3K, AMPK y PKC. Estas cinasas, favorecen la translocación de los GLUT-4 hacia la superficie celular y la activación de la hexocinasa; como resultado final el aumento en la captación de glucosa. En la segunda vía, la estimulación por el ejercicio del sistema nervioso central, incrementa la concentración plasmática de epinefrina, la cual a través de la activación de los receptores  $\beta$  adrenérgicos ( $\text{R}\beta\text{A}$ ) y el aumento del AMPc, activa la proteína cinasa dependiente de AMPc (PKA). Esta PKA, por un lado, a través de la activación de la fosforilasa a, favorecerá la glucogenolisis; y por el otro estimulará a la cinasa de la enzima bifuncional 6PF-2K/F2,6P<sub>2</sub>asa, la cual produce fructosa 2,6 bisfosfato (F2,6P<sub>2</sub>), potente activador de la 6FF1K. El aumento en la captación de glucosa y la glucogenolisis muscular activada, incrementarán la concentración de fructosa 6 fosfato (F6F), la cual junto con los adenín nucleótidos, Pi y F2,6P<sub>2</sub> activarán a la fosfofructocinasa (6FF1K) y como consecuencia la glucólisis.

PGH. Por lo que se sugiere que, durante el ejercicio, el aumento en la PGH es debido a la elevación de glucagon y a la ligera disminución de insulina, mientras que las catecolaminas ejercen poco efecto en la PGH.

## CONCLUSIONES

Los mecanismos celulares por los que la insulina o el ejercicio activan la captación de glucosa, son muy complejos, pues en ellos intervienen gran cantidad de proteínas y cascadas de señalización, dando como resultado el paso de la glucosa hacia el interior de

la célula y su posterior fosforilación. La glucosa es transportada hacia el interior del miocito a través de los transportadores de glucosa; en el estado basal a través del GLUT-1 y durante la estimulación por la insulina y la actividad física por el GLUT-4. La insulina y las contracciones musculares intervienen en la captación de glucosa por vías diferentes: la insulina a través de la activación del substrato intracelular tipo 1 del receptor de la insulina (IRS-1) y las contracciones musculares por mecanismos de activación local, llamados paracrinos y autocrinos.

En el mecanismo de la contracción muscular intervienen los adenín nucleótidos, Pi, ON, IFG-1 y  $\text{Ca}^{2+}$ , los cuales activan a la PI-3K, PKC y AMPK, produciendo finalmente un aumento en la translocación de los GLUT-4 hacia la membrana celular, así como la síntesis y activación de la hexocinasa I; por lo tanto, aumentando la captación de glucosa. Asimismo, la epinefrina aumenta la glucogenolisis y la glucólisis muscular. Finalmente, se estima que la epinefrina no ejerce control sobre la PGH, al menos en forma directa.



## REFERENCIAS

1. Aslesen R, Jensen J (1998) Effects of epinephrine on glucose metabolism in contracting rat skeletal muscles. *Am J Physiol* 275:E448-E456.
2. Ihlemann J, Ploug T, Hellsten Y, Galbo H (1999) Effect of tension on contraction-induced glucose transport in rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 277 (2 Pt 1):E208-E214.
3. Bergman BC, Brooks GA (1999) Respiratory gas-exchange ratios during graded exercise in fed and fasted trained and untrained men. *J Appl Physiol* 86:479-487.
4. Wood IS, Trayhurn P (2003) Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *Br J Nutr* 89(1):3-9.
5. Diez-Sampedro A, Eskandari S, Wright EM, Hirayama BA (2001) Na<sup>+</sup>-to-sugar stoichiometry of SGLT3. *Am J Physiol Renal Physiol* 280:F278-F282.
6. Zhao FQ, Keating AF (2007) Functional properties and genomics of glucose transporters. *Curr Genomics*. 8(2): 113-128.
7. Kraniou Y, Cameron-Smith D, Misso M, Collier G, Hargreaves M (2000) Effects of exercise on GLUT-4 and glycogenin gene expression in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 88:794-796.
8. Pessin JE, Thurmond DC, Elmendorf JS, Coker KJ, Okada S (1999) Molecular basis of insulin-stimulated GLUT4 vesicle trafficking. Location! Location! Location! *J Biol Chem* 274:2593-2596.
9. Ploug T, van Deurs B, Ai H, Cushman SW, Ralston E (1998) Analysis of GLUT4 distribution in whole skeletal muscle fibers: identification of distinct storage compartments that are recruited by insulin and muscle contractions. *J Cell Biol* 142:1429-1446.
10. Zhou M, Vallega G, Kandror KV, Pilch PF (2000) Insulin-mediated translocation of GLUT-4-containing vesicles is preserved in denervated muscles. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278:E1019-E1026.
11. Watson RT, Pessin JE (2001) Intracellular organization of insulin signaling and GLUT4 translocation. *Recent Prog Horm Res* 56:175-193.
12. Holloszy JO (2005) Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity *J Appl Physiol* 99:338-343.
13. Kuo CH, Hunt DG, Ding Z, Ivy JL (1999) Effect of carbohydrate supplementation on postexercise GLUT-4 protein expression in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 87:2290-2295.
14. Kawanaka K, Han DH, Nolte LA, Hansen PA, Nakatani A, Holloszy JO (1999) Decreased insulin-stimulated GLUT-4 translocation in glycogen-supercompensated muscles of exercised rats. *Am J Physiol* 276:E907-E912.
15. Derave W, Lund S, Holman GD, Wojtaszewski J, Pedersen O, Richter EA (1999) Contraction-stimulated muscle glucose transport and GLUT-4 surface content are dependent on glycogen content. *Am J Physiol* 277:E1103-E1110.
16. Kristiansen S, Gade J, Wojtaszewski JF, Kiens B, Richter EA (2000) Glucose uptake is increased in trained vs. untrained muscle during heavy exercise. *J Appl Physiol* 89:1151-1158.
17. Hayashi T, Wojtaszewski JF, Goodyear LJ (1997) Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle. *Am J Physiol* 273:E1039-E1051.
18. Shibata H, Omata W, Suzuki Y, Tanaka S, Kojima I (1996) A Synthetic Peptide Corresponding to the Rab4 Hypervariable Carboxyl-terminal Domain Inhibits Insulin Action on Glucose Transport in Rat Adipocytes. *J Biol Chem*. 271(16):9704-9709
19. Vavvas D, Apazidis A, Saha AK, Gamble J, Patel A, Kemp BE, Witters LA, Ruderman NB (1997) Contraction-induced changes in acetyl-CoA carboxylase and 5'-AMP-activated kinase in skeletal muscle. *J Biol Chem* 272:13255-13261.
20. Alessi DR, Downes CP (1998) The role of PI 3-kinase in insulin action. *Biochim Biophys Acta* 1436:151-164.
21. Russell RR, Bergeron R, Shulman GI, Young LH (1999) Translocation of myocardial GLUT-4 and increased glucose uptake through activation of AMPK by AICAR. *Am J Physiol* 277:H643-H649.
22. Ojuka EO, Nolte LA, Holloszy JO (2000) Increased expression of GLUT-4 and hexokinase in rat epitrochlearis muscles exposed to AICAR in vitro. *J Appl Physiol* 88:1072-1075.

23. Holmes BF, Kurth-Kraczek EJ, Winder WW (1999) Chronic activation of 5'-AMP-activated protein kinase increases GLUT-4, hexokinase, and glycogen in muscle. *J Appl Physiol* 87:1990-1995.
24. Bergeron R, Russell RR, Young LH, Ren JM, Marcucci M, Lee A, Shulman GI (1999) Effect of AMPK activation on muscle glucose metabolism in conscious rats. *Am J Physiol* 276:E938-E944.
25. Khayat ZA, Tsakiridis T, Ueyama A, Somwar R, Ebina Y, Klip A (1998) Rapid stimulation of glucose transport by mitochondrial uncoupling depends in part on cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  and Cpkc. *Am J Physiol* 275:C1487-C1497.
26. Whitehead JP, Molero JC, Clark S, Martin S, Meneilly G, James DE (2001) The role of  $\text{Ca}^{2+}$  in insulin-stimulated glucose transport in 3T3-L1 cells. *J Biol Chem* 276(30):27816-27824.
27. Joyner M J, Niki MD (1997) Nitric oxide and vasodilation in human limbs. *J Appl Physiol* 83(6):1785-1796.
28. Reid MB (1998) Role of nitric oxide in skeletal muscle: synthesis, distribution and functional importance. *Acta Physiol Scand* 162:401-409.
29. Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Vina J (2006) Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. *Ann NY Acad Sci* 1067:425-435.
30. Baron AD, Clark MG (1997) Role of blood flow in the regulation of muscle glucose uptake. *Annu Rev Nutr* 17:487-499.
31. Higaki Y, Hirshman MF, Fujii N, Goodyear LJ (2001) Nitric oxide increases glucose uptake through a mechanism that is distinct from the insulin and contraction pathways in rat skeletal muscle. *Diabetes* 50: 241-247.
32. Lira VA, Soltow QA, Long JHD, Betters JL, Sellman JE, Criswell DS (2007) Nitric oxide increases GLUT4 expression and regulates AMPK signaling in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293:E1062-E1068.
33. Pritzlaff CJ, Wideman L, Blumer J, Jensen M, Abbott RD, Gaesser GA, Veldhuis JD, Weltman A (2000) Catecholamine release, growth hormone secretion, and energy expenditure during exercise vs. recovery in men. *J Appl Physiol* 89:937-946.
34. Greiwe JS, Hickner RC, Shah SD, Cryer PE, Holloszy JO (1999) Norepinephrine response to exercise at the same relative intensity before and after endurance exercise training. *J Appl Physiol* 86:531-535.
35. Febbraio MA, Lambert DL, Starkie RL, Proietto J, Hargreaves M (1998) Effect of epinephrine on muscle glycogenolysis during exercise in trained men. *J Appl Physiol* 84:465-470.
36. Coker RH, Krishna MG, Lacy DB, Bracy DP, Wasserman DH (1997) Role of hepatic alpha- and beta-adrenergic receptor stimulation on hepatic glucose production during heavy exercise. *Am J Physiol* 273:E831-E838.