



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**PAPEL DESEMPEÑADO POR LAS CÉLULAS DEL ISLOTE
DE LANGERHANS EN LA DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Autor: Matías La Fontaine Sarmiento

Fecha: 12-13 de junio de 2019

Tutor: Carmen Álvarez Escolá

Resumen

La Diabetes Mellitus constituye una de las patologías con mayor prevalencia hoy en día, caracterizada por unos niveles sanguíneos de glucosa elevados de manera patológica, fruto de una deficiencia en la metabolización de los azúcares que conlleva una serie de riesgos para la salud. Una hiperglucemia crónica puede causar tanto complicaciones microvasculares (retinopatía, nefropatías y neuropatías) como macrovasculares (enfermedad arterial coronaria, alteraciones cerebrovasculares y otras alteraciones vasculares periféricas) [1], además de otro tipo de complicaciones metabólicas que pueden ser mortales.

La Diabetes tipo 2 es la más frecuente, suponiendo en torno al 90% de los casos de diabetes. La patología se caracteriza por una inicial resistencia a la insulina por parte de los tejidos periféricos (músculo esquelético, adipocitos, hígado..), lo cual desencadenará un aumento en la glucemia al ser incapaz estos tejidos de captar esta glucosa. La consiguiente respuesta fisiológica será una hipersecreción patológica de insulina por parte de los islotes de Langerhans para contrarrestar la resistencia, lo cual conllevará un final agotamiento de las células β del islote de Langerhans.

Introducción y antecedentes

La Diabetes Mellitus tipo 2 es un tipo de Diabetes caracterizada por una resistencia periférica de los tejidos a la insulina, donde la insulina secretada por las células β será incapaz de reducir los niveles de glucosa.

Se trata por tanto de una patología cuyo epicentro se sitúa en el páncreas endocrino, órgano secretor tanto de la insulina como del glucagón, las hormonas responsables de la homeostasis glucémica.

El páncreas según su funcionalidad se divide en:

1. Páncreas exocrino. La porción del páncreas que sintetiza y vierte enzimas digestivas al duodeno. Está formado por células acinares y células ductales, las cuales sintetizan enzimas digestivas (amilasa, lipasa, elastasa pancreática) y una solución buffer compuesta por carbonatos la cual contrarresta la acidez. El páncreas exocrino representa el 95% de la masa del páncreas.

2. Páncreas endocrino. Se trata de la porción del páncreas, los islotes de Langerhans, que secretan las hormonas reguladoras de glucemia; glucagón, insulina, somatostatina y polipéptido pancreático.

El páncreas endocrino será en el cual haremos mayor hincapié; Se compone de 500 mil, 1 millón de islotes, los cuales representan entre el 1 y 2% de la masa del páncreas total. Los islotes de Langerhans a su vez se dividen en distintos tipos de células:

1. Células α ; secretan glucagón.
2. Células β ; secretan insulina.
3. Células δ ; secretan somatostatina.
4. Células PP; secretan polipéptido pancreático.

La insulina es sintetizada inicialmente como Pre-Proinsulina en el retículo endoplasmático de las células β , donde sufrirá una serie de escisiones para originar posteriormente la insulina propiamente dicha, la cual se almacenará en los gránulos secretores en las células β .

Esta Pre-Proinsulina presenta una secuencia señal de 24 aminoácidos en el extremo NH₂ terminal, la cual interacciona con partículas de reconocimiento de señal (SRP), jugando estas un papel muy importante en la translocación de la Pre-Proinsulina a través del retículo endoplasmático rugoso, seguida de una cadena B y C y por último de una cadena A.

Inicialmente se producirá la pérdida de esta secuencia de 24 aminoácidos dando lugar a la Proinsulina a través de la acción de una peptidasa del retículo endoplasmático rugoso, para posteriormente ser transportada al aparato de Golgi para sufrir un proceso de plegamiento, formándose 3 enlaces disulfuro que son esenciales para originar una estructura proteica terciaria. Es en el aparato de Golgi donde se escinde la cadena C, dando lugar a la insulina propiamente dicha. Esta será almacenada junto con la cadena C (o péptido C) en los gránulos secretores junto a amilina (o polipéptido amiloide de los islotes IAPP), donde se almacenará en forma de hexámeros a la espera de ser liberada. Una vez se libera, actúa en su forma monomérica, la insulina funcional. [2].

Los islotes de Langerhans, las células β , liberarán insulina a la sangre por una señal transcrita principalmente por la glucosa al unirse a los receptores de glucosa presentes en los islotes. Los islotes de Langerhans se tratan de zonas profusamente irradiadas, zonas que reciben 10 veces más sangre que el resto de regiones pancreáticas, además de presentar gran número de

fenestras, pequeños poros que permiten un mejor intercambio de nutrientes entre los tejidos irradiados y los de alrededor. Estas fenestras permiten además una rápida difusión de la insulina hacia la sangre. [3].

Además de ser una señal desencadenada por glucosa, la secreción de insulina también puede estar causada por determinados ácidos grasos, algunos aminoácidos y otras hormonas como melatonina, hormona del crecimiento o las incretinas GLP-1 (glucagon like peptide-1) y GIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide), aunque su presencia es requisito necesario para la liberación de insulina.

Glucosa y secreción de insulina. Su liberación se produce cuando la célula β capta glucosa a través del transportador GLUT 2, actuando este a modo de sensor de glucosa. La glucosa será fosforilada, y siguiendo una serie de procesos catabólicos propios del metabolismo glucémico (glucolisis y ciclo de Krebs), originará una gran cantidad de ATP. La glucocinasa tiene una gran importancia además de su función metabólica propiamente dicha; debido a su baja afinidad a la glucosa respecto a otras hexocinasas y que su acción no sufre una retroalimentación negativa, es decir, la acción de la Hexocinasa no se ve reducida por la producción de glucosa-6-fosfato, la glucocinasa tiene una acción continua y constante. Siguiendo el proceso de glucolisis, se originará piruvato, que posteriormente continuando el ciclo de ácidos tricarbóxicos, producirá gran cantidad de ATP.

Este aumento de ATP provocará el cierre del canal de potasio SUR en la célula, sensible a las concentraciones de ATP, lo que tendrá como consecuencia la consiguiente despolarización en la célula. Esta despolarización supondrá la entrada de iones calcio Ca^{2+} a través de canales voltaje dependiente de la célula β .

El flujo de iones calcio tendrá como resultado la liberación de insulina por parte de la célula β al fusionarse con la membrana plasmática por un mecanismo de exocitosis vertiendo su contenido al riego sanguíneo.

Además de liberarse insulina a través del procesamiento de la glucosa por el ciclo de Krebs (así es de manera mayoritaria), puede estar también ocasionada por la formación de glicerol-3-fosfato. Después de ser fosforilada la glucosa, esta puede entrar en proceso de glicolisis para dar lugar a piruvato, siendo este metabolizado a dihidroxiacetona fosfato para originar posteriormente glicerol-3-fosfato. Este metabolito es muy importante al ser capaz de anar

factores que pueden aumentar la secreción de insulina como Acil-Coa de cadena larga y diacilglicerol. Además de esta acción, el glicerol-3-fosfato puede regenerar los niveles de NAD^+ para así promover el metabolismo energético mitocondrial y generar aún más secreción de insulina [4].

Ácidos grasos, aminoácidos y secreción insulina. Tanto los ácidos grasos como los aminoácidos por sí solos provocan una liberación de insulina muy escasa. Sin embargo, ciertas combinaciones de aminoácidos en concentraciones fisiológicas pueden aumentar esta liberación de insulina, mientras que los ácidos grasos potencian la liberación de insulina mediada por glucosa.

Es el caso de la combinación de glutamina con leucina; La leucina activa la glutamato deshidrogenasa, que convierte al glutamato en α -cetoglutarato. La glutamina, tras metabolizarse en glutamato por la glutaminasa, entrará al ciclo de los ácidos tricarbónicos (el α -cetoglutarato forma parte de este ciclo), dando lugar a una producción de ATP que tendrá como consecuencia una liberación de insulina incrementada [5]. Sin esta leucina, la glutamina se metabolizaría en GABA y asparato, sin ningún efecto insulínico.

Además, algunos aminoácidos contribuyen indirectamente a la secreción de insulina; en periodo de ayuno, proteínas del músculo esquelético son catabolizadas, y los aminoácidos son metabolizados para generar energía; estos aminoácidos libres, como alanina y glutamina, son liberados a la sangre y actúan como secretagogos de glucagon, lo que provoca un aumento de azúcar que consiguientemente aumentará los niveles de insulina en sangre.

Los ácidos grasos libres también influyen en la secreción de insulina. Potencian la secreción de insulina para compensar el aumento de la insulina necesaria como consecuencia de la resistencia de tejidos periféricos a la misma como consecuencia de la Diabetes tipo 2. Adicionalmente, los ácidos grasos libres pueden aumentar la liberación de insulina mediada por glucosa, ya que se ha visto que los islotes privados de ácidos grasos pierden esa liberación de insulina mediada por glucosa.

Se ha descubierto recientemente un receptor de ácidos grasos presente en las células β , FFAR-1 (Free Fatty Acid Receptor), mediante el cual los ácidos grasos regularían la acción de las células β [6].

Adicionalmente, existe un mecanismo de inducción de liberación de insulina a través de mecanismos que involucran a las incretinas; Las incretinas son hormonas peptídicas secretadas en el intestino como respuesta a la ingesta de alimentos. Las incretinas son el polipéptido inhibidor gástrico GIP y el péptido similar al glucagon-1 GLP-1, liberadas por las células K y células L respectivamente. La ingesta de alimentos, incluyendo glucosa y aminoácidos, estimula la liberación de estas hormonas por parte de células del intestino delgado. Estas hormonas actuarán directamente en las células β provocando la consiguiente liberación de insulina [7].

Objetivos

El objetivo de este trabajo será destacar el papel fundamental de las células del islote de Langerhans del páncreas en la Diabetes Mellitus tipo 2. Es en las células β del mismo islote donde se secreta la insulina, por lo que su importancia se antoja mayúscula. Este grupo de células históricamente han acaparado la mayoría de estudios e investigaciones. Sin embargo, en este trabajo se buscará también remarcar el tan importante y muchas veces olvidado papel de las células α y el glucagón en la diabetes, pues la enfermedad no se entiende sin ellos, responsable en gran parte de los efectos patológicos de la diabetes.

Entendida muchas veces como un defecto en la secreción de insulina, se buscará comprender la diabetes como una alteración bihormonal, donde tanto las células α como las células β , y el glucagón y la insulina, constituyen el origen y causa de la patología.

Metodología

Al ser este un trabajo de revisión bibliográfica, se ha desarrollado este documento a partir de la búsqueda de información en artículos científicos basándose en búsquedas en el portal 'PubMed', siendo estos artículos información rigurosa, contrastada y actualizada, teniendo en cuenta que la diabetes es una enfermedad sobre la que se publica gran cantidad de artículos y estudios y cuyo interés no hace más que aumentar año por año, al tratarse de una de las grandes enfermedades del mundo desarrollado y que cada vez adquiere mayor importancia en países en vías de desarrollo.

Resultados

Apoptosis y regeneración de células β pancreáticas. Tanto la Diabetes Mellitus tipo 1 como la Diabetes Mellitus tipo 2 se caracterizan por una destrucción progresiva de las células β , principalmente a través de mecanismos de apoptosis, aunque en DM1 sea causa de mecanismo autoinmune autolítico y en DM2 por un exceso de nutrientes (además de existir un claro componente genético), existen rutas celulares comunes entre ambas [8].

La obesidad es un factor patogénico para desarrollar una inicial resistencia a la insulina, asociada a un incremento en la grasa intracelular. La resistencia a la insulina evolucionará a diabetes mellitus 2 cuando las células β sean incapaces de secretar cantidades adecuadas de insulina para compensar esta insensibilidad de tejidos periféricos; el paso a una diabetes mellitus 2 plena está marcada por un paso de resistencia a insulina a disfunción celular de las células β [9].

Aunque la obesidad está relacionada directamente con DM2, la mayoría de obesos no desarrollan diabetes, puesto que una liberación mayor de insulina es suficiente para compensar esa resistencia en la mayoría de los casos, donde las células β ven aumentada su masa y su actividad. Esta funcionalidad exacerbada se debe a una estimulación de rutas de crecimiento, en particular, aumentará la producción de GLP-1, provocándose un efecto anti apoptótico y pro crecimiento en células β .

Sin embargo, en individuos ‘susceptibles’ esto no es así, estos mecanismos compensatorios no son suficientes, y tendría lugar una disfunción celular desencadenante en DM2.

En pacientes diabéticos se observa una reducción de un 40% del volumen de sus células β comparado con pacientes no diabéticos [10]. La apoptosis se ve sustancialmente incrementada, siendo este el mecanismo principal para el descenso de la masa de células β en individuos diabéticos. El espacio que deja esta atrofia de los islotes será ocupado por depósitos de placas de amilina, aunque su papel en esta disfunción celular se desconoce [11].

Mecanismos patológicos de Diabetes Mellitus tipo 2. La teoría predominante del daño a las células β se explica por la exposición crónica y de manera excesiva a glucosa y ácidos grasos, lo que se conoce como glucotoxicidad y lipotoxicidad. La combinación de estas dos toxicidades se conoce como ‘glucolipotoxicidad’ [12]

La glucotoxicidad se explicaría por la abundante expresión de receptores GLUT-2 en las células β . La exposición crónica a la glucosa produce un aumento del calcio intracelular que

induce a la destrucción de la propia célula, además de aumentar la producción de IL-1 β , una consiguiente activación de NF-kB, fragmentándose el ADN y dañándose así la función de la célula β [13].

La hiperglucemia además dará lugar a reacciones de glicación y a la producción de ROS [14]. La glicación se trata de una reacción no enzimática que alterará la función de las proteínas a las que afecta a través de la acción de azúcares reductores (glucosa, fructosa, lactosa..), donde los productos finales de glicación AGE están relacionados con la producción de daño celular. En cuanto a la importancia de ROS, en células β se hace evidente al observarse que un marcador de estrés oxidativo, el 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina aumenta en las células β de ratas diabéticas (Goto-Kakizaki) [15]. Además, los marcadores de estrés oxidativo en sangre y orina se ven también elevados en pacientes diabéticos, y los niveles de glutatión reducidos.

El hecho de que al envejecer la exposición a largo plazo de ROS se puede apreciar de manera significativa, sumado a un aumento del peso corporal junto a un estilo de vida sedentario podría explicar el motivo por el que la DM2 es una enfermedad que afecta sobre todo a población de mediana edad con un estilo de vida insano. A este hecho habría que sumar que los niveles de enzimas antioxidantes en las células β son bastante bajas (Superóxido dismutasa SOD, catalasa, glutatión peroxidasa..)[16].

Los radicales hidroxilos son particularmente peligrosos en las células β , las cuales son bastante vulnerables al estrés oxidativo que causan, por su habilidad de cruzar la membrana nuclear y ejercer su efecto mutagénico. A esto hay que sumar que rutas de la propia célula como la fosforilación oxidativa, junto a otras rutas glicolíticas, cuando se saturan, generan ROS y glicosilaciones respectivamente, añadiendo a la balanza la activación de rutas JNK y NF-kB por todo este estrés oxidativo [17].

La ruta JNK fosforilará IRS-1 por un residuo de serina, provocándose una disminución de la señal nuclear transducida por lo que se producirá una disminución del factor PDX-1 (O IPF-1, es un factor de transcripción esencial para la maduración de células β). IRS-1 es esencial para la función y supervivencia de la célula β , cuya ausencia conduce a una resistencia a la insulina por parte del islote. [18]. Una disminución en la señalización de esta vía causada por la fosforilación de IRS-1 por JNK resulta en un aumento en la expresión del gen Foxo-1, el cual juega un papel importante impidiendo la translocación de PDX-1 al núcleo. [19].

La entrada constante de glucosa a la célula β provoca un estado de insensibilidad reversible a la misma provocándose una extenuación de los gránulos que contienen insulina. Cuando esta glucotoxicidad continúa, los daños en los islotes de Langerhans darán lugar a una producción de insulina de tal forma que esta insensibilidad se vuelve irreversible,

Realmente se cree que este efecto en las células β es más resultado de alteración en su función más que en una simple apoptosis, ya que pacientes que se someten a importantes pancreatectomías (perdiendo un 60% de la masa) no tienen por qué desarrollar necesariamente un estado de hiperglucemia y son capaces de compensar esta pérdida de células incrementando la función de las células β remanentes.

En cuanto a la lipotoxicidad, los efectos de los ácidos grasos en la apoptosis de las células del islote de Langerhans son complejos y están relacionados con múltiples factores incluyendo estrés oxidativo, formación de ceramidas y procesos inflamatorios. Los efectos a una exposición crónica a ácidos grasos no está tan clara, pero parece estar relacionado en una lipólisis aumentada en el tejido adiposo blanco como resistencia a la insulina, proceso que dará lugar a un aumento de ácidos grasos libres en sangre que a su vez aumentarán la resistencias a insulina por parte de los tejidos periféricos. Adicionalmente, el acumulo de tejido adiposo aumentará la secreción de citoquinas y adipocinas por parte del adipocito como ser TNF- α , IL-6 o adiponectina [20], de las cuales destacamos el poder citotóxico de TNF- α sobre las células β .

Sin embargo, como aclarábamos antes, es más que probable que la ausencia de una condición de hiperglucemia o de defectos preexistentes en la función de las células β minimice de manera significativa el efecto citotóxico de los ácidos grasos libres en los islotes de Langerhans . Los efectos de la glucolipotoxicidad surgirían de los efectos de la glucosa en el metabolismo lipídico de las células del islote de Langerhans [21].

La glucosa en las células β origina citrato a través de su metabolismo, el cual dará posteriormente malonil-CoA, el cual a su vez inhibe a la carnitina palmitoil transferasa-1 (CPT-1). La inhibición de esta enzima impedirá la oxidación de los ácidos grasos ya que la CPT-1 juega un papel fundamental en el transporte de ácidos grasos a la mitocondria, donde serán sustratos de la β -oxidación. Al ser incapaz de entrar a la mitocondria, se producirá un aacumulo de éster de acil-CoA de cadena larga en el citosol, los cuales a la larga serán metabolizados por rutas catabólicas que originarán lipidos complejos citotóxicos a través de la activación de la AMP Kinasa. Su actividad está inversamente relacionada con la

concentración de glucosa, y es exacerbada por ácidos grasos presentes en la célula. Su activación dará lugar a la lipogénesis mediante la activación del factor de transcripción SREBP1c (sterol-regulatory-element-binding-protein-1c) [22]. Hay que tener presente además que no todos los lípidos tienen el mismo efecto en la función de las células β ; los triglicéridos son relativamente no-tóxicos, los ácidos grasos monoinsaturados tienen efecto protector, mientras que los ácidos grasos saturados como el palmitato, inducen rutas de muerte celular [23]. A pesar de que el mecanismo exacto por el cual la exposición crónica a ácidos grasos saturados origina una secreción de insulina defectuosa es desconocido, sí se han visto una serie de cambios como ser la activación de la proteína de membrana mitocondrial interna UCP2 (uncoupling protein 2), la activación de PLC- ϵ o cambios en la secreción de gránulos de insulina responsable de ello [24].

Se debe considerar además que este flujo incrementado tanto de glucosa como de ácidos grasos genera una carga demasiado grande para la oxidación mitocondrial, generándose especies reactivas de oxígeno ROS, sumado al hecho que como comentábamos anteriormente las células β se caracterizan por una baja presencia de enzimas antioxidantes. La activación de UCP2 por las ROS puede disipar el potencial de membrana mitocondrial al permitir la entrada de protones al interior de la matriz de la mitocondria, lo cual supone un mecanismo de defensa frente a las ROS, pero que a su vez supondrá una disminución en el ratio ATP/ADP, lo que desencadenará una menor capacidad de secretar insulina. El papel protagonista de la mitocondria no acaba aquí, puesto que las rutas apoptóticas convergen en este orgánulo, con la activación de la caspasa 3 y exportación del citocromo c, por lo que su papel en la muerte celular acontecida por la glucolipototoxicidad se presupone muy importante.

Por último, en la glucolipototoxicidad se debe tener en cuenta cómo altos niveles de glucosa impiden el metabolismo de ácidos grasos, lo que da lugar a la formación de compuestos tóxicos, como las ceramidas, las cuales provocarán una disminución en la secreción de insulina, una disfunción celular en los islotes de Langerhans y una final apoptosis [25]; la exposición crónica a ácidos grasos y glucosa supone una carga metabólica tremenda para la mitocondria, sumado a la producción de ROS, la activación de la UCP2 que da lugar a una disminución en la producción de ATP y a la inducción del ‘desdoblamiento’ de proteínas son

los grandes causantes del proceso apoptótico que desencadenará posteriormente esta enfermedad metabólica.

Importancia del glucagón y de las células α del islote de Langerhans

Hasta 1970, la diabetes era una enfermedad donde se creía que todas las alteraciones metabólicas y efectos patológicos eran causadas por un déficit de insulina; la lipólisis y proteólisis exacerbada, el exceso de producción de glucosa por parte del hígado y la cetogénesis característica. Actualmente, la diabetes mellitus tipo 2 es entendida como un desorden bihormonal, donde existe un déficit de insulina y un exceso de glucagón [26]; La ausencia de insulina sería responsable de la lipólisis y proteólisis exacerbadas y el glucagón agente causante de la hiperproducción de glucosa hepática. Este contribuye además al estado de hiperglucemia postprandial característico de la enfermedad, y es el agente causante de la cetogénesis.

En pacientes no diabéticos, los niveles de glucagón disminuyen ante un estado de hiperglucemia, sin embargo, en diabéticos tipo 2 esto no es así, existiendo un estado de hiperglucagonemia postprandial.

Otra diferencia a lo que el glucagón se refiere es que en pacientes no diabéticos, la secreción de glucagón se ve inhibida por la insulina y otras moléculas presentes en los gránulos de insulina, Zinc y GABA, donde además la somatostatina secretada por las células δ del islote juegan un papel muy importante en esta inhibición.

La hiperglucemia estimula la secreción de insulina y somatostatina, las cuales inhiben la secreción de glucagón, donde además las células α presentan receptores de insulina [27]. En cuanto al Zinc, presente en los gránulos de insulina, activa los canales de K^+ -ATP en las células α inhibiendo también la secreción de glucagón, mientras que GABA se une a receptores GABAérgicos de la célula α provocando la hiperpolarización de la célula y con ello una disminución en la secreción de glucagón. Sin embargo, en pacientes con DM2, la concentración de glucagón está elevada a lo largo del día a pesar de un estado de hiperglucemia continuo, sugiriendo que las células α serán menos sensibles al efecto inhibitorio de la glucosa; Existen tres hipótesis del porqué:

- Un defecto en la secreción de insulina dentro del microcircuito constituido en los islotes.
- Resistencia a la insulina por parte de las células α .
- Una especie de ‘ceguera’ a la hiperglucemia de las células α .

La hipótesis paracrina toma peso teniendo en cuenta que en la diabetes se produce una atrofia de las células β y no una hiperplasia de células α . Sin embargo, existen datos que corroboran la acción directa por parte de la glucosa en la liberación de glucagón, ya que las células α presentan al igual que las β receptores GLUT1, con un valor de K_m muy bajo, menor que el nivel de glucosa promedio en sangre, asegurándose así una alta afinidad por la glucosa, transformada en ATP para así cerrar los canales de K^+ ATP dependientes, provocando así una despolarización de la célula abriéndose los canales de Na^+ y Ca^{2+} , lo cual disparará la exocitosis de gránulos de glucagón.

El glucagón, además de su efecto en la homeostasis glucémica, actúa en la estimulación de la termogénesis en el tejido adiposo marrón, inhibición de la motilidad gástrica, activación de la lipólisis e inhibición de la síntesis de lípidos [28, 29], por lo que podría ser una diana terapéutica de la diabetes tipo 2 muy importante, ya que suele ir de la mano de la obesidad, viéndose actualmente su uso en clínica limitado a terapia de rescate en caso de hipoglucemia.

Efecto de glucagón. El glucagón en sangre llega al hígado por la vena porta, estimula la glucogenólisis y gluconeogénesis hepática, generando un estado de hiperglucemia.

El estado de hiperglucemia postprandial no es resultado de un defecto en la absorción ni utilización de la glucosa, sino en el hecho de que no se produce una supresión de la secreción de glucagón adecuada (y con ello no se suprime la generación de glucosa hepática, bien a través de gluconeogénesis o glucogenólisis).

Incretinas en Diabetes. Las incretinas son unas hormonas de liberación intestinal como resultado a la ingesta de alimentos. Se descubrieron cuando varios estudios reportaron que la insulina producida por la ingesta oral de glucosa era mucho mayor que la producida por la administración parenteral [30]. Por tanto, tendría que existir algún mecanismo celular que estimulara la secreción de insulina cuando la glucosa pasa por el aparato gastrointestinal. A partir de ahí surgiría el nombre incretina; intestino, secreción, insulina.

La primera incretina en descubrirse fue GIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide), siendo posteriormente descubierta la GLP-1 (glucagon-like peptide 1).

En pacientes no diabéticos, las incretinas contribuyen al 60-70% de liberación de insulina, mientras que en pacientes diabéticos suponen menos de un 20% [31]. Aunque no se deba directamente a la reducción de liberación de GIP y GLP-1, la causa señalada sería una desensibilización a las incretinas por parte de las células β , existiendo una reducción de receptores de incretinas en pacientes con DM2.

GIP, liberada por las células K del intestino, actúa estimulando la liberación de insulina por parte de los islotes de Langerhans a través de la ruta AMPc/PKA. Además de su papel insulínico, contribuye en la transcripción y biosíntesis de proinsulina, en la expresión de mRNAs para GLUT-1 y de la enzima Hexokinasa. A nivel de las células α incrementa la liberación de glucagón sobre todo en estados de hipoglucemia, mientras que a nivel de adipocitos estimula la lipogénesis y la actividad de la lipoprotein lipasa.

En pacientes con DM2, el efecto estimulador sobre el glucagón que ejerce GIP puede eclipsar su efecto insulínico, reduciéndose su poder terapéutico como antidiabético [32]. Al añadirse GIP a una terapia basada en GLP-1 (muchos medicamentos están basados en análogos de GLP-1), no se aprecia beneficios respecto al control de la glucemia.

En cuanto al GLP-1, este es secretado por células L del intestino como respuesta a la ingesta de alimentos. GLP-1 potencia la liberación de insulina dependiente de glucosa, incrementa la transcripción de genes de insulina y de biosíntesis de la misma e incrementa el número de células β al inducir la proliferación e inhibir la apoptosis. GLP-1 reduce niveles de glucagón en plasma, en contraste con la acción glucagonotrópica de GIP [33].

Su efecto inhibitorio en glucagón depende de las concentraciones de glucosa plasmática; en estados hipoglucémicos este efecto no se observa. En cuanto al por qué se desconoce exactamente, lo que sí se conoce es que GLP-1 estimula la liberación de somatostatina, la cual podría actuar por un circuito paracrino regulando la acción de GLP-1 sobre células alfa. [34].

La administración de GLP-1 a pacientes con DM2 redujo drásticamente los niveles de glucemia postprandiales, mecanismo resultante de varios procesos complementarios, donde se incluye la reducción de niveles de glucagón, la supresión del vaciado gástrico y la reducción del apetito, sumado a la liberación de insulina estimulada por la glucosa.

En cuanto a medicamentos que involucran a las incretinas hablamos de dos familias; por una parte inhibidores de DPP-4, dipeptidil peptidasa 4, enzima que metaboliza a las incretinas, por tanto incrementando la vida media de las mismas (sitagliptina, linagliptina, vildagliptina..) y por otra parte análogos de GLP-1 inyectables como exenatida, liraglutida.

Glucagón como diana terapéutica.

Hormona de acción opuesta a insulina; activa la lipólisis en tejido adiposo, la glucogenólisis y gluconeogénesis hepática, además de inhibir glicólisis y síntesis de glucógeno.

Las células β expresan receptores de glucagón, el cual es capaz de estimular la liberación de insulina por lo que puede ser usada en el tratamiento de pacientes diabéticos. Además de sus efectos a nivel de homeostasis de glucosa, presenta mecanismos para actuar sobre la supervivencia de hepatocitos, con efectos inotrópico y cronotrópico positivo sobre el corazón, efectos antiespasmódicos a nivel gastrointestinal y aumento de lipólisis junto a un aumento en la liberación de hormona del crecimiento [35].

Debido a sus efectos sobre los niveles de glucosa, el glucagón surge como una diana lógica para el tratamiento de diabetes mellitus y obesidad.

Se ha visto que la hiper glucagonemia juega un papel muy importante en la patogénesis de la hiperglucemia en ayunas en pacientes diabéticos (una supresión de glucagón contribuye a una hiperglucemia postprandial). Además, sorprendentemente, en ausencia de insulina los efectos de la hiper glucagonemia son más pronunciados (La disminución en la secreción de insulina juega un papel muy importante en el estado de hiper glucagonemia en DM2). [36].

El enfoque lógico por tanto sería el suprimir la secreción de glucagón, principal mecanismo de defensa frente a la hipoglucemia.

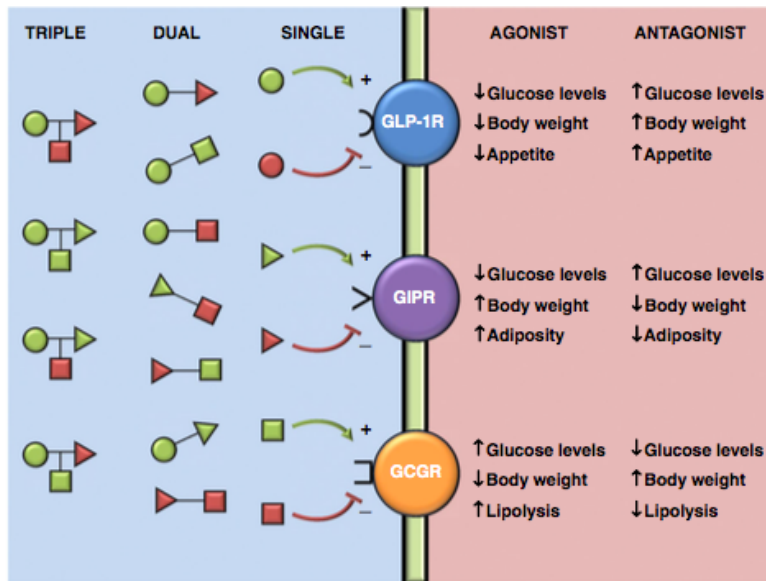
Terapia innovadora basada en el glucagón. El glucagón es una proteína compuesta por 29 aminoácidos, la cual se transforma de Proglucagon a glucagón por la acción de la prohormona convertasa 2 PC2 en las células α del islote de Langerhans [37]. En cuanto a sus acciones fisiológicas, como hemos comentado anteriormente, estimula rutas metabólicas catalíticas (glucogenólisis, lipólisis) además de inhibir la síntesis de glucógeno y glucólisis. Adicionalmente, actúa de manera significativa sobre la ingesta de comida en humanos y reduce el peso corporal en ratas obesas. Además, las células β poseen receptores de glucagón, por lo que este es capaz de estimular la liberación de insulina.

Considerando sus efectos lipolíticos y regulatorios sobre la insulina, se ha iniciado el desarrollo de agonistas del receptor de glucagón como una diana a desarrollar en el tratamiento de obesidad y diabetes por sus efectos en la reducción de peso y efectos hipoglucémicos, e incluso el desarrollo de moléculas agonistas dualmente sobre receptor de glucagón y sobre receptor de GLP-1. Se han desarrollado nuevas moléculas basadas en la Oxyntomodulina, una hormona capaz de estimular ambos receptores, la cual reduce el peso corporal, estimula la lipólisis y mejora la sensibilidad a la insulina. Sin embargo, la posibilidad de un estado de hipoglucemia sigue siendo muy probable. Considerando esto, se modificó la estructura de la Oxyntomodulina para conseguir moléculas con mayor agonismo al receptor de GLP-1 y menor al receptor de glucagón, para así conseguir un mejor control de la glucemia sin perder el efecto termogénico y lipogénico del glucagón, obteniéndose potenciales fármacos para el tratamiento de diabetes y obesidad [38]. En el tratamiento con coagonistas de GLP-1 y glucagón en ratones durante 4 semanas consiguió disminuir la obesidad y la esteatosis hepática, además de mejorar la tolerancia a la glucosa y el metabolismo del colesterol [39].

Siguiendo este camino, se desarrollaron agonistas de receptor de GLP-1, de glucagón, y además de receptor de GIP. Al tener el efecto de ambas incretinas, se pudo incrementar el agonismo hacia el receptor de glucagón, y por lo tanto incrementar la pérdida de peso causada por la lipólisis y termogénesis generada por el agonismo al receptor de glucagón, cuya hiperglucemia estaría contrastada por el agonismo a ambas incretinas [40]. El uso de un triagonista en ratones de manera diaria disminuyó obesidad, resistencia a la insulina y mejora de la tolerancia a la glucosa, además de corregir el metabolismo de triglicéridos y colesterol en 3 semanas de tratamiento.

Al igual que en unos casos se ha entendido que un agonista de glucagón sería óptimo para el tratamiento de la diabetes junto a la obesidad por sus efectos hipoglucémicos y catalíticos, también se ha interpretado la otra cara de la moneda; antagonizar el receptor de glucagón para obtener así un efecto hipoglucémico, donde se han buscado diferentes enfoques a lo que medicamentos se refiere, desarrollándose ramas de antagonistas peptídicos al receptor de glucagón GCGR, antagonistas orales no peptídicos o anticuerpos monoclonales. A pesar de ser un enfoque lógico el antagonizar el efecto del glucagón, se ha de ver con precaución ya

que la hipoglucemia que pudiese provocar antagonizar el glucagón podría ser mortal. Actualmente se encuentran en desarrollo.



Antagonistas Peptídicos. En 1972 se descubrió que el residuo N-terminal de Histidina del glucagón era crítico para su actividad agonista. Se modificó así esta Histidina y su Arginina 12 dando lugar al THG ([1-N a-tinitrofenilhistidina,12-homoarginina]-glucagón), antagonista al receptor de glucagón GCGR.

Desde su descubrimiento (capaz de disminuir los niveles de glucosa sanguínea en ratas diabéticas), se han desarrollado más de 20 antagonistas peptídicos al GCGR [41]. Un hito fue el descubrimiento de un aminoácido bicíclico de naturaleza fúngica (BI-32169), obtenida de *Streptomyces* sp., con una estructura completamente distinta al glucagón, que mostró una elevada actividad inhibitoria frente al GCGR humano.

Sin embargo, el interés actual de las farmacéuticas reside en medicamentos orales de naturaleza no peptídica.

En 1998 se desarrolló el primer antagonista al receptor de glucagón no peptídico, desarrollado por Novo Nordisk. Sin embargo, su IC₅₀ era demasiado alta, por lo que se fue modificando hasta obtener en 2007 una molécula cuya IC₅₀ era aceptable al igual que su biodisponibilidad oral, demostrando reducir la glucogenolisis inducida por glucagón. A día de hoy existen muchos fármacos que siguen en ensayos clínicos para poder demostrar su seguridad y eficacia.

Al igual que ocurre con terapias oncológicas y en enfermedades autoinmunes, se está desarrollando el uso de anticuerpos monoclonales como terapia antidiabética, administrando anticuerpos que bien neutralicen al glucagón o ejerzan su efecto sobre el receptor de

glucagón.

El anticuerpo monoclonal al receptor de glucagón, hGCCGRmAB, mostró en ratones una normalización de la glucosa, una disminución de la glucosa en ayuno a la par que mejoró la tolerancia a la glucosa sin provocar una hipoglucemia [42]. La inmunoterapia en diabetes se intuye como un tratamiento prometedor como antidiabético, aunque se debe de ver con cautela.

Discusión

A mediados del siglo XX se inició la farmacoterapia antidiabética con la introducción de las inyecciones de insulina, siendo posteriormente introducidas la farmacología oral basada en biguanidas, secretagogos capaces de estimular la secreción de insulina. A partir de ahí la terapia antidiabética ha dado saltos agigantados, donde tanto las dianas terapéuticas como las formas farmacéuticas han avanzado notablemente. En cuanto a lo que diabetes mellitus 2 se refiere, el primer escalón de la terapia se basa en metformina, medicamento con capacidad hipoglucemiante, para luego surgir un abanico de posibilidades; agonistas de receptor SUR-1 (sulfonilureas, repaglinida..), agonistas de receptores huérfanos como el PPAR- γ (rosiglitazona, pioglitazona), inhibidores de la α -glucosidasa (acarbose), inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4, que prolonga la vida media de las incretinas (sitagliptina, linagliptina), agonistas de GLP-1 (exenatida, liraglutida)...

En diabetes ha habido una revolución farmacológica, al ser una enfermedad de tanto peso social, que afecta a cientos de millones de personas y cuyos índices poblacionales están al alza, aumentando anualmente su incidencia, suponiendo además la gran carga económica que es y los problemas de salud que conlleva. Sin embargo, a pesar de este abanico de posibilidades y combinaciones, el papel del glucagón a lo que diabetes se refiere se ha mantenido siempre como residual; la diabetes se ha entendido históricamente como un déficit en la insulina (cuando realmente el enfoque adecuado sería una alteración en la homeostasis de la glucemia, donde el glucagón juega un papel sumamente importante), y que además no se ha enfocado como diana terapéutica. La diana terapéutica lógica que involucrara al glucagón sería un antagonismo (conseguir así un efecto hipoglucémico). Sin embargo, a día de hoy se está buscando un agonismo al receptor de glucagón para así aprovechar sus efectos termogénicos y lipolíticos y poder combinarlo con terapia antidiabética ya asentada como

agonistas de GLP-1 u otros secretagogos. Hay que sumar además el hecho que la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad muchas veces se presentan juntas, constituyéndose del síndrome metabólico, por lo que estas nuevas terapias agonistas duales o triples nos ofrecen una alternativa terapéutica muy interesante para el futuro.

Conclusión

Es evidente que la insulina y por tanto las células β constituyen el epicentro de la diabetes; es la hormona que se encuentra de manera deficitaria y el grupo de células cuya acción se encuentra atrofiada. Además, la terapia antidiabética está basada principalmente en la insulina. Sin embargo, el glucagón y las células α son las grandes olvidadas de la diabetes, lo cual es bastante importante desde un punto de vista terapéutico; históricamente se ha dejado de lado completamente la terapia con un enfoque al glucagón, donde este siempre ha desempeñado un papel secundario en la diabetes, limitado a la terapia de rescate en casos de hipoglucemia.

Esto a día de hoy está cambiando puesto que se está desarrollando nuevos medicamentos cuya diana es el receptor de glucagón principalmente, GCGR, bien mediante un mecanismo de agonismo o antagonismo, aunque principalmente está primando agonismo combinado con agonismo hacia incretinas, por lo que el glucagón está adquiriendo la importancia que se merece. Esta expansión terapéutica nos acerca hacia un mejor tratamiento de la diabetes, donde cada vez son mayores las dianas terapéuticas, mejor es la calidad de vida del paciente, menores son las complicaciones derivadas y mayor es su esperanza de vida, por lo que este avance en la terapia de la enfermedad supone un gran paso hacia delante. Sin embargo es evidente que este es un proceso que lleva unos tiempos largos, y que quizás la primera de generación de tratamientos con el glucagón como diana presenten reacciones adversas o posologías complicadas, pero también está claro que esto nos acerca hacia una terapia antidiabética más completa y más plena además de un mejor entendimiento de la diabetes.

Bibliografía

- [1]. Klein R. Hyperglycemia and Microvascular and Macrovascular Disease in Diabetes. *Diabetes Care*. 1995; 18(2):258-268.
- [2]. Taylor K. The biosynthesis and secretion of insulin. *Clinics in Endocrinology and Metabolism*. 1972; 1(3):601-622.
- [3] Suckale J, Solimena M. Pancreas islets in metabolic signaling-focus on the beta-cell. *Front Biosci*. 2008; 13:7156-71.

- [4] Eto K, Tsubamoto Y. Role of NADH shuttle system in glucose-induced activation of mitochondrial metabolism and insulin secretion. *Science*. 1999; 283(5404):981–985.
- [5] Sener A, Malaisse WJ. L-leucine and a nonmetabolized analogue activate pancreatic islet glutamate dehydrogenase. *Nature*. 1980; 288(5787):187–190.
- [6] Itoh Y, Kawamata Y. Free fatty acids regulate insulin secretion from pancreatic beta cells through GPR40. *Nature*. 2003; 422(6928):173–176.
- [7] MacDonald PE, El-Kholy W, Riedel MJ et al. The multiple actions of GLP-1 on the process of glucose-stimulated insulin secretion. *Diabetes*. 2002; 51(3):434–442.
- [8] Cnop M, Welsh N, Jonas JC et al. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. *Diabetes*. 2005; 54 (2):97–107.
- [9] Pietropaolo M, Le Roith D. Pathogenesis of diabetes: our current understanding. *Clin Cornerstone*. 2001; 4(2):1–16.
- [10] Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003; 52(1):102–110.
- [11] Jaikaran ET, Clark A. Islet amyloid and type 2 diabetes: from molecular misfolding to islet pathophysiology. *Biochim Biophys Acta*. 2001; 1537(3):179–203.
- [12] Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*. 2003; 52(3):581–587.
- [13] Maedler K, Sergeev P, Ris F, et al. Glucose-induced beta cell production of IL-1beta contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J Clin Invest*. 2002; 110(6):851–860.
- [14] Kajimoto Y, Matsuoka T et al. Induction of glycation suppresses glucokinase gene expression in HIT-T15 cells. *Diabetologia*. 1999; 42(12):1417–1424.
- [15] Ihara Y, Toyokuni S, Uchida K et al. Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic beta-cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999; 48(4):927–932.
- [16] Robertson RP, Harmon J, Tran PO et al. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*. 2003; 52(3):581–587.
- [17]. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*. 1991; 40(4):405–412.
- [18]. Withers DJ, Gutierrez JS, et al. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature*. 1998; 391(6670):900–904.
- [19]. Martinez SC, Tanabe K. Inhibition of Foxo1 protects pancreatic islet beta-cells against fatty acid and endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *Diabetes*. 2008; 57(4):846–859.
- [20] Kharroubi I, Ladriere L, Cardozo AK, Cnop M, Eizirik DL. Free fatty acids and

cytokines induce pancreatic beta cell apoptosis by different mechanisms: role of NF-kappa B and endoplasmic reticulum stress. *Diabetologia*. 2004; 47:176–176.

[21]. Poitout V, Robertson RP. Minireview: Secondary beta-cell failure in type 2 diabetes--a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*. 2002; 143(2):339–242.

[22]. Fougere F, Ferre P. New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. *Biochem J*. 2002; 366(2):377–391.

[23]. Shimabukuro M, Higa M, et al. Lipoapoptosis in beta- cells of obese prediabetic fa/fa rats. Role of serine palmitoyltransferase overexpression. *J Biol Chem*. 1998; 273(49):32487–32490.

[24]. Schmitz-Peiffer C, Laybutt DR, et al. Inhibition of PKCepsilon improves glucose-stimulated insulin secretion and reduces insulin clearance. *Cell Metab*. 2007; 6(4):320–328.

[25]. Mulder H, Ling C. Mitochondrial dysfunction in pancreatic beta-cells in Type 2 diabetes. *Mol Cell Endocrinol*. 2009; 297(2):34–40.

[26]. Chang-Chen KJ, Muller R. beta-cell failure as a complication of diabetes. *Rev Endocr Metab Disord*. 2008; 9(4):329–343.

[27]. 3. Gromada J, Franklin I, Wollheim C. α -Cells of the Endocrine Pancreas: 35 Years of Research but the Enigma Remains. *Endocrine Reviews*. 2007; 28(1):84-116.

[28]. Kuroshima A, Yahata T. Thermogenic Responses of Brown Adipocytes to Noradrenaline and Glucagon in Heat-acclimated and Cold-acclimated Rats. *The Japanese Journal of Physiology*. 1979; 29(6):683-690.

[29]. Mochiki E, Suzuki H et al. Mechanism of inhibitory effect of glucagon on gastrointestinal motility and cause of side effects of glucagon. *Journal of Gastroenterology*. 1998; 33(6):835-841.

[30]. Hollenbeck C, Chen N, Chen Y, Reaven G. Relationship between the plasma insulin response to oral glucose and insulin-stimulated glucose utilization in normal subjects. *Diabetes*. 1984; 33(5):460-463.

[31]. Nauck M, Homberger E. Incretin Effects of Increasing Glucose Loads in Man Calculated from Venous Insulin and C-Peptide Responses*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1986; 63(2):492-498.

[32]. Chia C, Carlson O, Kim W, Shin Y, Charles C, Kim H et al. Exogenous Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide Worsens Post prandial Hyperglycemia in Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2009; 58(6):1342-1349.

[33]. 8. Baggio L, Drucker D. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 2007; 132(6):2131-2157.

- [34]. Hare K, Vilsboll T, Asmar M, Deacon C, Knop F, Holst J. The Glucagonostatic and Insulinotropic Effects of Glucagon-Like Peptide 1 Contribute Equally to Its Glucose-Lowering Action. *Diabetes*. 2010; 59(7):1765-1770.
- [35]. Longuet C, Sinclair E, Maida A, Baggio L et al. The Glucagon Receptor Is Required for the Adaptive Metabolic Response to Fasting. *Cell Metabolism*. 2008; 8(5):359-371.
- [36]. 11. Shah P. Lack of Suppression of Glucagon Contributes to Postprandial Hyperglycemia in Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000; 85(11):4053-4059.
- [37]. Quesada I, Tudurí E, Ripoll C, Nadal Á. Physiology of the pancreatic α -cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes. *Journal of Endocrinology*. 2008; 199(1):5-19.
- [38]. Zhou J, Cai X, Huang X, Dai Y, Sun L, Zhang B et al. A novel glucagon-like peptide-1/glucagon receptor dual agonist exhibits weight-lowering and diabetes-protective effects. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017 ; 138:1158-1169.
- [39]. Müller TD, Finan B, Clemmensen C, DiMarchi RD, Tschöp MH. The New Biology and Pharmacology of Glucagon. *Physiological Reviews*. 2017; 97:721–766[
- [40]. Kleinert M, Clemmensen C, Stemmer K, Müller T, DiMarchi R, Tschöp M. Emerging Poly-Agonists for Obesity and Type 2 Diabetes. *Obesity*. 2017; 25(10):1647-1649.
- [41]. Potterat O, Wagner K, Gemmecker G, Mack J, Puder C, Vettermann R et al. BI-32169, a Bicyclic 19-Peptide with Strong Glucagon Receptor Antagonist Activity from *Streptomyces* sp. *Journal of Natural Products*. 2004 ;67(9) :1528-1531.
- [42]. Yan H, Gu W, Yang J, Bi V, Shen Y. Fully Human Monoclonal Antibodies Antagonizing the Glucagon Receptor Improve Glucose Homeostasis in Mice and Monkeys. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2009; 329(1):102-111.