

Diabetes, mitocondrias y ejercicio

Katja S.C. Röckl, Carol A. Witczak y Laurie J. Goodyear

Research Division, Joslin Diabetes Center and Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Harvard, MA, Estados Unidos.

El ejercicio produce efectos beneficiosos en la salud general de los individuos, y es indiscutible el papel que desempeña en el tratamiento y la prevención de la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2. Una sesión aguda de ejercicio o contracción muscular aumenta la captación de glucosa en el músculo esquelético a través de vías independientes de la insulina, y ello conduce a mejoras en la homeostasis corporal total de la glucosa. La actividad física regular induce cambios adaptativos en el músculo esquelético a través de modificaciones de la expresión de genes metabólicos. Estos cambios consisten en aumentos de las mitocondrias y modificaciones de la distribución de los tipos de fibras musculares. Un objetivo importante de la investigación sobre el ejercicio es el estudio de las señales moleculares que son inducidas por la actividad muscular y regulan los procesos metabólicos y transcripcionales clave en el músculo esquelético. En esta revisión, presentamos una breve panorámica general de la investigación sobre el ejercicio en el campo metabólico, describiendo diversas señales moleculares que subyacen en esos procesos. En este campo dinámico de investigación, se está realizando una búsqueda de otras proteínas de señalización estimuladas por el ejercicio. Los estudios que se realizan para aclarar en mayor medida las vías influidas por el ejercicio que intervienen en el transporte de glucosa, el tipo de fibra muscular y la biogénesis mitocondrial, permitirán comprender mejor cómo se producen los efectos favorables del ejercicio, mejorar nuestro conocimiento sobre los mecanismos patológicos de las enfermedades metabólicas como la diabetes tipo 2 e identificar nuevas dianas farmacológicas para el tratamiento.

Palabras clave: *Músculo esquelético. Transporte de glucosa. Tipo de fibra.*

Diabetes, Mitochondria and Exercise

Exercise has beneficial effects on overall health, and its role in the treatment and prevention of insulin resistance and type 2 diabetes is undisputed. An acute bout of exercise or muscle contraction increases glucose uptake into skeletal muscle through insulin independent pathways, which leads to improvements in whole body glucose homeostasis. Regular physical activity induces adaptative changes in skeletal muscle through modification of metabolic gene expression. Such changes include increases in mitochondria and alteration of muscle fiber type distribution. An important goal of exercise research is to study molecular signals that are induced by muscle activity and that regulate key metabolic and transcriptional events in skeletal muscle. In this review, we give a brief overview of exercise research in the metabolic field, describing a number of molecular signals underlying these events. In this dynamic field of research the search for additional exercise-stimulated signalling proteins is ongoing. Studies to further elucidate exercise-mediated pathways involved in glucose transport, muscle fibre type and mitochondrial biogenesis will help to further understand the beneficial effects of exercise, to improve our knowledge about the pathological mechanisms of metabolic diseases such as type 2 diabetes, and to find new pharmacological targets for treatment.

Key words: *Skeletal muscle. Glucose transport. Fibre type.*

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la diabetes afecta en todo el mundo a más de 180 millones de personas, y las estimaciones epidemiológicas de la Organización Mundial de la Salud prevén que este número alcance los 366 millones

(4,4% de la población mundial) al llegar al 2030. Así pues, la diabetes está siendo reconocida rápidamente como una amenaza para la salud pública que está adquiriendo proporciones epidémicas.

Aunque la frecuencia de la diabetes va en aumento, se sabe desde hace tiempo que la actividad física aporta beneficios de salud importantes para las personas con diabetes tipo 2. El ejercicio influye positivamente la homeostasis de la glucosa al potenciar el transporte de glucosa y la acción de la insulina en el músculo esquelético en contracción, que es el principal tejido responsable de la utilización corporal total de glucosa¹. El

Correspondencia: Dr. L.J. Goodyear.
Senior Investigator and Head, Section on Metabolism Joslin Diabetes Center.
One Joslin Place, Boston, MA 02215, EE.UU.
Correo electrónico: Laurie.Goodyear@joslin.harvard.edu

ABREVIATURAS

AICAR: 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleósido
 AMPK: proteincinasa activada por AMP
 AS160: sustrato Akt de 160 kDa
 CaMK: proteincinasa dependiente de Ca²⁺/calmodulina
 ERK: cinasa regulada por señal extracelular
 IRS-1/2: sustrato de receptor de insulina-1/2
 PAS: sustrato fosfo-Akt
 PGC-1 α : coactivador 1 de receptor activado por proliferador de peroxisoma α
 PI3-K: fosfatidilinositol 3-cinasa
 PKC: proteincinasa C
 ROS: especies moleculares de oxígeno reactivo

ejercicio crónico (es decir, el entrenamiento físico) aumenta la actividad y el contenido mitocondriales del músculo esquelético², lo cual aporta un mecanismo adicional para la mejora de la sensibilidad a la insulina que se produce a través del ejercicio. Los efectos del ejercicio que provocan un aumento del transporte de glucosa en el músculo esquelético, la actividad mitocondrial y la sensibilidad a la insulina pueden explicar la clara evidencia epidemiológica que indica que la actividad física regular previene o retrasa el inicio de la diabetes tipo 2³.

A pesar de la importancia fisiológica del ejercicio en la regulación del transporte de glucosa y la función mitocondrial en el músculo esquelético, los mecanismos moleculares subyacentes se conocen tan sólo en parte. La identificación detallada de los mecanismos revelará sin duda nuevas dianas para el tratamiento, a la vez que proporcionará un conocimiento fundamental de este complejo proceso fisiológico. En este artículo, revisaremos brevemente la literatura médica actual sobre este importante campo de investigación en la diabetes.

SISTEMA DE TRANSPORTE DE GLUCOSA EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO

El ejercicio físico y la estimulación de la glucosa son los dos factores estimuladores del transporte de glucosa en el músculo esquelético de mayor importancia fisiológica⁴. En los individuos con diabetes tipo 2, hay un deterioro de los mecanismos de señalización dependientes de la insulina que regulan el transporte de glucosa en el músculo. Es importante señalar que los mecanismos independientes de la insulina, como los que regulan la captación de glucosa a través del ejercicio/contracción, se mantienen indemnes⁵.

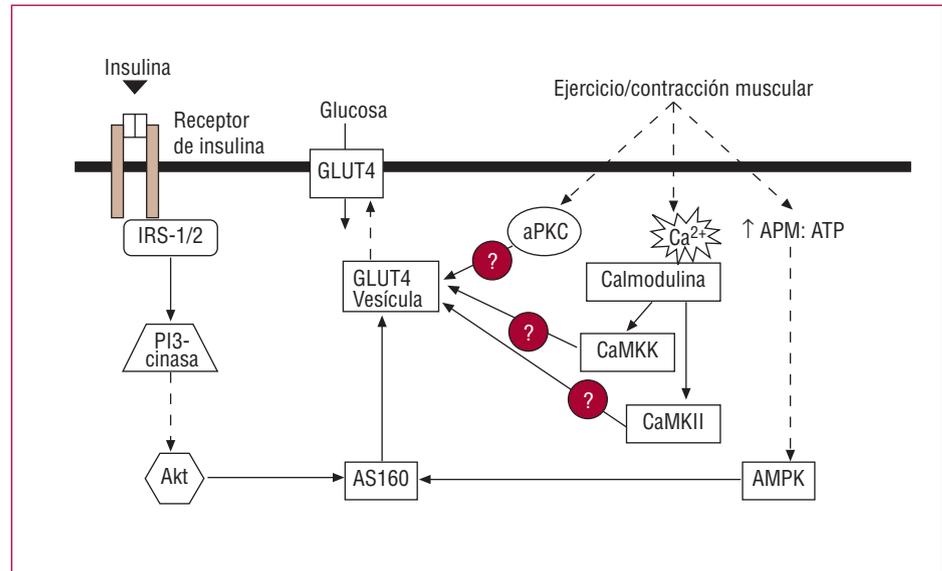
La GLUT4 es la isoforma de transportador de glucosa que se expresa de manera predominante en el

músculo esquelético, y la translocación de GLUT4 de una localización intracelular a la membrana plasmática es el principal mecanismo a través del cual tanto la insulina como la contracción muscular aumentan el transporte de glucosa en el músculo esquelético⁴. Nuestro laboratorio, al igual que los de otros autores, ha realizado investigaciones para aclarar los mecanismos de señalización que conducen a la translocación de GLUT4 estimulada por el ejercicio⁴. Los estudios iniciales han puesto de manifiesto que existen vías proximales diferenciadas que se encargan de la estimulación de la translocación de GLUT4 y el transporte de glucosa producida por el ejercicio y por la insulina. La señalización de la insulina se basa en una autofosforilación rápida del receptor de insulina, la fosforilación del sustrato de receptor de insulina-1/2 (IRS-1/2) tirosina y la activación de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3-K)⁶. La señalización dependiente de PI3-K regula la fosforilación de la proteincinasa B/Akt⁷, que regula, a su vez, la fosforilación del sustrato Akt de 160 kDa (AS160)⁸. En el músculo esquelético, el PI3-K es una molécula esencial para la translocación de GLUT4⁹ y el transporte de glucosa⁹⁻¹¹ estimulados por la insulina. En cambio, el ejercicio y la contracción muscular no ejercen efecto alguno sobre el receptor de insulina y la fosforilación de IRS-1, ni sobre la actividad de PI3-K⁶. Además, el inhibidor de PI3-K, wortmannina, o el carácter de *knockout* para el receptor de insulina específico muscular, no deterioran el transporte de glucosa estimulado por la contracción⁹⁻¹². Estos datos ponen claramente de manifiesto que las señales de iniciación que conducen a una translocación de GLUT4 por parte de la insulina y por parte del ejercicio en el músculo esquelético son diferentes. En los apartados siguientes, comentaremos las proteincinasas, AMPK, CaMK y aPKC, que son moléculas de señalización que intervienen en la captación de glucosa estimulada por la contracción, así como el AS160, que ha surgido como posible punto de convergencia a distancia en las cascadas de señalización de la insulina y del ejercicio (fig. 1).

Proteincinasa activada por AMP (AMPK)

Durante el ejercicio físico, las contracciones musculares dan lugar a cambios del estado de energía celular (por ejemplo, un aumento del cociente AMP:ATP celular). Esto pone en marcha una activación de la proteincinasa activada por AMP (AMPK), una molécula que interviene en numerosos procesos, como el metabolismo de glucosa/lípidos, la síntesis proteica y la transcripción génica. Sobre la base de los estudios en los que se utilizó el activador de AMPK, 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleósido (AICAR), se propuso que la AMPK era la principal señal responsable del transporte de glucosa en el músculo estimulado por la contracción¹³. Sin embargo, la inhibición de la acti-

Fig. 1. Modelo propuesto para las vías de señalización que intervienen en el transporte de glucosa en el músculo esquelético inducido por la insulina y por la contracción. Como se comenta detalladamente en el texto, está claramente establecido que en la vía de señalización de la insulina interviene la PI3-cinasa, mientras que puede haber múltiples vías que lleven al transporte de glucosa estimulado por la contracción. AMPK: proteína activada por AMP; aPKC: proteína cinasa C atípica; AS160: sustrato Akt de 160 kDa; CaMKII: proteína cinasa II dependiente de Ca^{2+} /calmodulina; CaMKK: proteína cinasa dependiente de Ca^{2+} /calmodulina; GLUT4: transportador de glucosa 4; IRS-1/2: sustrato de receptor de insulina -1/2; PI3-cinasa: fosfatidilinositol 3-cinasa.



vidad de AMPK en el músculo esquelético, a través de la manipulación genética pone claramente de manifiesto que la AMPK no es el único mecanismo de señalización que interviene en este proceso^{14,15}. Así pues, debe haber múltiples señales que regulen el transporte de glucosa estimulado por la contracción en el músculo esquelético.

Proteínas dependientes de Ca^{2+} /calmodulina (CaMK)

Los aumentos de la concentración intracelular de Ca^{2+} son una parte fundamental de la contracción muscular, y en estudios recientes se ha involucrado en ello a miembros de la familia de proteínas multifuncionales dependientes de Ca^{2+} /calmodulina (CaMK), atribuyéndoles un papel subyacente crucial en el transporte de glucosa estimulado por Ca^{2+} . La calmodulina es una proteína expresada de forma ubicua que actúa como receptor intracelular para el Ca^{2+} . El complejo Ca^{2+} /calmodulina activa diversas proteínas de señalización, incluidas las que forman parte de la familia CaMK (CaMK cinasa, CaMKI, CaMKII y CaMKIV). La incubación de músculos epitrocleares de rata con el inhibidor competitivo de Ca^{2+} /calmodulina, KN-93, reduce el transporte de glucosa en respuesta a la contracción muscular y a la cafeína, un agente liberador de las reservas de Ca^{2+} ¹⁶, mientras que la fosforilación de la AMPK no se ve afectada. Estos resultados sugieren que las CaMK regulan el transporte de glucosa de manera independiente de la señalización de AMPK, lo cual concuerda con lo indicado por un reciente estudio de nuestro laboratorio, que puso de manifiesto que la señalización dependiente de CaMKK α puede estimular la captación muscular de glucosa sin que se produzcan cambios en la actividad

de AMPK¹⁷. En cambio, un estudio reciente realizado con músculos de ratón aislados ha puesto de relieve que la inhibición de la señalización de CaMK con KN-93 o con el inhibidor de CaMK cinasa, STO-609, inhibe la captación de glucosa inducida por la contracción en el músculo esquelético a través de una vía de señalización dependiente del AMPK¹⁸. Así pues, está todavía en discusión el papel del AMPK en la regulación de los aumentos de captación de glucosa en el músculo esquelético que se producen a través de Ca^{2+} /calmodulina. Además, se ha demostrado que los inhibidores de KN inhiben el transporte de glucosa estimulado por insulina en el músculo esquelético¹⁹. Dado que, como se ha mencionado antes, las señales proximales que intervienen en el transporte de glucosa estimulado por la contracción y por la insulina son claramente distintas, es posible que los compuestos de KN tengan un cierto grado de inespecificidad y puedan provocar otros efectos además de la inhibición de las CaMK. Una explicación alternativa es que la señalización de CaMK presente un punto de convergencia para las vías de transporte de glucosa estimuladas por la insulina y por la contracción. Así pues, está justificada una mayor investigación en este campo.

Proteína C (PKC)

Los estudios realizados en los años ochenta sugirieron por primera vez que la contracción muscular aumenta la actividad de la proteína C (PKC), una molécula a la que se ha involucrado en la regulación de numerosas funciones celulares²⁰. En las células de mamíferos, se han identificado 12 isoformas diferentes de PKC, que se han clasificado en tres subfamilias en función de su semejanza de aminoácidos y de su modo de activación: las PKC convencionales (cPKC), isoform-

mas α , $\beta 1$, $\beta 2$ y γ), las PKC nuevas (nPKC, isoformas, δ , ϵ , θ y η) y las PKC atípicas (aPKC, isoformas, ζ and λ)²¹. La inhibición farmacológica de las cPKC y de las nPKC amortiguó la captación de glucosa estimulada por la concentración en el músculo esquelético²², lo cual sugería que la PKC es importante en este proceso. Sin embargo, estudios recientes en los que se ha evaluado la activación de la PKC con especificidad de isoforma no han podido mostrar un aumento de la actividad de cPKC o nPKC con el ejercicio/contracción²³. Esta controversia podría explicarse por un cierto grado de falta de especificidad de los compuestos farmacológicos. A diferencia de lo observado con las cPKC/nPKC, nuestro laboratorio y los de otros autores han demostrado recientemente que las aPKC son activadas por el ejercicio²³⁻²⁵. Además, la sobreexpresión de aPKC de tipo natural y activas de forma constitutiva en las líneas celulares estimula o potencia los efectos de la insulina sobre el transporte de glucosa, mientras que las aPKC inactivas como cinasa inhiben el efecto de la insulina sobre el transporte de glucosa^{26,27}. Otros datos sugieren que los efectos de la AMPK sobre el transporte de glucosa se producen a través de la activación secuencial de la cinasa regulada por la señal extracelular (ERK), tirosincinasa rica en prolina 2, la fosfolipasa D y las aPKC²⁴. Estos resultados no concuerdan del todo con nuestros datos previos que indican que el transporte de glucosa estimulado por la insulina y por la contracción es independiente de la señalización de ERK²⁸. En futuros estudios, será importante aclarar la presunta interacción AMPK-aPKC.

Sustrato Akt de 160 kDa (AS160)

El sustrato Akt de 160 kDa (AS160) es una proteína recientemente descubierta que regula la translocación de GLUT4 estimulada por la insulina en los adipocitos 3T3-L1²⁹ y los miotubos L6³⁰. Es fosforilado en seis lugares diferentes del sustrato fosfo-Akt (PAS) en respuesta tanto a la insulina como a la contracción³¹. La evidencia reciente obtenida en nuestro laboratorio indica que la AMPK fosforila el AS160 (PAS) en respuesta al AICAR y a la contracción en el músculo esquelético³¹, y que la mutación de cuatro lugares del PAS inhibe la captación de glucosa inducida por la insulina y también de la inducida por la contracción³². Así pues, el AS160 parece ser un punto de convergencia de la señalización dependiente de la insulina y la dependiente de la contracción, en la regulación del tráfico de GLUT4 y la captación de la glucosa en el músculo esquelético.

Otros presuntos mediadores de la captación de glucosa en el músculo esquelético

Los investigadores han especulado sobre la intervención de otras señales en la regulación del transpor-

te de glucosa en el músculo esquelético estimulada por la contracción, como bradicinina, leptina, especies moleculares de oxígeno reactivo (ROS) y óxido nítrico. Aunque en la actualidad no hay ninguna evidencia que respalde un posible papel de la bradicinina en el transporte de la glucosa en el músculo³³, varios estudios han aportado datos que respaldan un posible papel de la leptina³⁴, las ROS³⁵ y el óxido nítrico³⁶. Sin embargo, otras investigaciones han sugerido que la leptina estimula el transporte de la glucosa a través del PI3-K, que forma parte de la vía de señalización de la insulina³⁴, mientras que el óxido nítrico estimula el transporte de la glucosa a través de un mecanismo distinto del de las vías de señalización dependientes de la contracción y de la insulina³⁶.

ADAPTACIONES DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO AL ENTRENAMIENTO FÍSICO

La actividad física regular da lugar a adaptaciones del músculo esquelético que permiten al músculo una utilización más eficiente de los sustratos para la producción de ATP. En los apartados que siguen, resumiremos la literatura médica actual sobre dos adaptaciones principales que se producen con el entrenamiento físico: a) transformaciones del tipo de fibra muscular y b) aumentos de la actividad y contenido mitocondriales.

Los tipos de fibra muscular se han clasificado tradicionalmente según su expresión de isoformas de la cadena pesada de miosina como fibras de contracción rápida (tipo IIb, IIx y IIa) y fibras de contracción lenta (tipo I). Las fibras de tipo IIb y tipo IIx dependen principalmente de vías glucolíticas para la producción de ATP, mientras que las fibras de tipo IIa y I dependen de vías oxidativas³⁷. Hay una asociación entre el tipo de fibra y las mitocondrias, de tal manera que las fibras de tipo IIb tienden a ser las que presentan un contenido mitocondrial más bajo y las fibras de tipo I las que lo tienen más alto. Se ha demostrado que el entrenamiento de resistencia induce un aumento de las mitocondrias y provoca una transformación del tipo de fibras, que pasa del tipo IIb al IIx y IIa, y en casos infrecuentes también a fibras musculares de tipo I³⁷. Es importante tener en cuenta que la biogénesis mitocondrial y la transformación del tipo de fibras pueden producirse de manera independiente una de otra, lo cual sugiere la existencia de mecanismos de señalización claramente diferenciados para ambos tipos de respuesta adaptativa.

Se considera que los ácidos grasos desempeñan un papel crucial en la patogenia de la resistencia a la insulina, presumiblemente al inhibir el transporte de glucosa estimulado por la insulina³⁸. La actividad y el contenido de mitocondrias del músculo esquelético reflejan su capacidad de metabolizar ácidos grasos para la producción de ATP, a lo que se denomina también capacidad oxidativa. Se ha acumulado la evidencia que indica

que la capacidad oxidativa está deteriorada en los individuos con diabetes tipo 2³⁹. Es interesante señalar que estos pacientes presentan también una distribución distinta de tipos de fibras de músculo esquelético, con un predominio de fibras glucolíticas de tipo IIb o IIx⁴⁰. A pesar de que no se ha establecido todavía claramente el vínculo fisiopatológico existente entre la expresión de isoformas de cadena pesada de miosina y la diabetes tipo 2, estas observaciones implican que la plasticidad de las fibras musculares desempeña un papel importante en esta enfermedad. En los apartados que siguen presentaremos una breve revisión de las moléculas de señalización que se considera que desempeñan un papel clave en la biogénesis mitocondrial y/o la transformación del tipo de fibra muscular (fig. 2).

Co-activador 1 α del receptor activado por proliferados de peroxisoma α (PGC-1 α)

El PGC-1 α es un coactivador transcripcional que interacciona con diversos factores de transcripción (por ejemplo, MEF2, ERR α , NRF-1, NRF-2) para regular el metabolismo de glucosa/ácidos grasos, la biogénesis mitocondrial y la transformación del tipo de fibra muscular del II al I⁴¹⁻⁴³. Tanto el ejercicio de corta duración como el entrenamiento de resistencia estimulan la expresión de PGC-1 α en los miocitos⁴⁴ y se cree que esto ocurre a través de un mecanismo de retroacción positiva en el que se produce un aumento de expresión de MEF2. Aunque los mecanismos distales de la vía de señalización de PGC-1 α en el músculo esquelético están bien establecidos, es menos lo que se sabe acerca de la señalización proximal que interviene en la activación del PGC-1 α . Las vías a las que se ha involucrado son las de AMPK, CaMKIV y la proteína fosfatasa dependiente de Ca²⁺/calmodulina, calcineurina^{42,45,46}.

AMPK

Diversos estudios han sugerido un papel de la AMPK en la biogénesis mitocondrial. La activación de la AMPK con AICAR, o el análogo de creatina, ácido β -guanidinopropiónico, aumenta la actividad y el contenido de proteínas mitocondriales a través de una activación del factor de transcripción NRF1⁴⁷⁻⁴⁹, y este efecto está abolido en los ratones muertos⁴⁹ o *knockout* para AMPK α 2 cinasa⁵⁰. En consonancia con estas observaciones, los ratones transgénicos con un aumento de actividad de AMPK muestran aumentos de los marcadores mitocondriales⁵¹. Además, las inyecciones crónicas de AICAR inducen la expresión de RNA de PGC-1 α en el músculo esquelético de la rata⁴⁵, lo cual sugiere un posible vínculo entre la activación de la AMPK y la señalización de PGC-1 α . Sorprendentemente, en respuesta al entrenamiento físico, los ratones *knockout* para AMPK α 2 no presentan déficit alguno de los aumentos mitocondriales⁵⁰. Así pues, a pesar

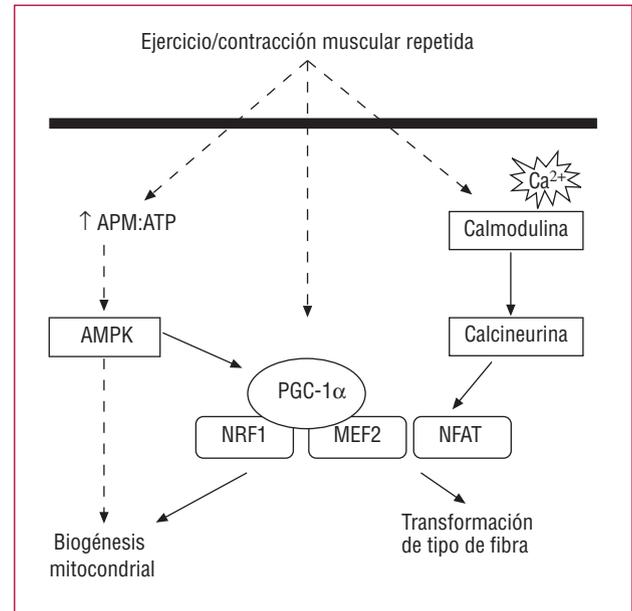


Fig. 2. Modelo propuesto para las vías de señalización que intervienen en la biogénesis mitocondrial y la transformación del tipo de fibra con las adaptaciones del músculo esquelético al entrenamiento físico. Como se comenta detalladamente en el texto, se ha involucrado a la señalización de AMPK, calcineurina y PGC-1 α en la regulación de la biogénesis mitocondrial y la transformación del tipo de fibra. AMPK: proteína activada por AMP; MEF2: factor potenciador miofibrilar 2; NFAT: factor nuclear de células T activadas; NRF1: factor respiratorio nuclear 1; PGC-1 α : coactivador 1 α del receptor activado por proliferador de peroxisoma α .

de su capacidad de inducir la biogénesis mitocondrial, la AMPK no es esencial para los aumentos de las mitocondrias inducidos por el entrenamiento físico.

Diversos estudios han propuesto que la AMPK es un posible mediador de la plasticidad de las fibras musculares^{37,42}. Estudios recientes del entrenamiento físico realizados en nuestro laboratorio, con el empleo de modelos de ratones transgénicos con abolición o aumento crónico de la actividad de AMPK han sugerido que la AMPK desempeña un papel en las transformaciones del tipo de fibra muscular inducidas por el entrenamiento⁵¹. Serán necesarias nuevas investigaciones para aclarar por completo el papel de la AMPK en las adaptaciones a largo plazo del músculo esquelético al entrenamiento físico.

Calcineurina

La calcineurina, una proteinfosfatasa dependiente de Ca²⁺/calmodulina, ha pasado a ser conocida como el regulador principal de los cambios de tipo de fibra muscular de contracción rápida al tipo de contracción lenta⁵², y es posible que intervenga también en el aumento de la capacidad oxidativa⁵³. En unas condiciones de elevaciones mantenidas, de baja amplitud, del Ca²⁺ intracelular, el Ca²⁺/calmodulina activa la calci-

neurina, que a su vez desfosforila y activa el factor de transcripción NFAT. En los ratones transgénicos, la sobreexpresión de la calcineurina activa constitutivamente da lugar a un aumento de las fibras musculares de tipo I de contracción lenta⁵⁴. Y a la inversa, la inhibición de la calcineurina por la ciclosporina fomenta la transformación del tipo lento en el rápido⁵². Lin et al⁴² plantean la hipótesis de que es esencial una colaboración entre la vía del PGC-1 α y la de la calcineurina para la transformación de la fibra muscular de contracción rápida en una de contracción lenta, y de que esta interacción puede producirse tras la coactivación directa de proteínas MEF2 por la acción del PGC-1 α ⁴². Aunque se ha establecido el papel de la calcineurina en la inducción de la expresión génica para las fibras musculares de contracción lenta, serán necesarios nuevos estudios para aclarar si este mismo mecanismo fomenta, al menos en parte, los cambios de tipos de fibra inducidos por el entrenamiento, que corresponden de forma característica a la transformación del tipo IIb en el IIa.

Los estudios publicados sobre el papel de la calcineurina en la biogénesis mitocondrial han presentado resultados controvertidos. Los ratones transgénicos que expresan calcineurina activa de forma constitutiva muestran un aumento de la expresión de PGC-1 α ⁵⁵ y, en miocitos en cultivo, la calcitonina activa constitutivamente regula positivamente un gran número de genes involucrados en el metabolismo energético mitocondrial⁵⁶. Además, los pacientes trasplantados que reciben tratamiento de mantenimiento con ciclosporina, un inhibidor de la calcineurina, desarrollan una pérdida de la capacidad oxidativa del músculo esquelético⁵⁷. A pesar de estos datos que sugieren un importante papel de la calcineurina en la biogénesis mitocondrial, otros estudios han demostrado que la fosfatasa no puede explicar por completo las adaptaciones inducidas por el entrenamiento físico en el músculo esquelético^{58,59}. Será apasionante conseguir descifrar mejor el papel de la calcineurina en las adaptaciones del músculo esquelético al entrenamiento físico.

CaMKIV

La expresión de una forma activa de manera constitutiva de CaMKIV en mioblastos C2C12 potencia considerablemente la función del factor de transcripción MEF2 estimulado por la calcineurina⁶⁰. Estos datos concuerdan con el hecho de que los ratones transgénicos que expresan CaMKIV activa constitutivamente muestran aumentos de la expresión de PGC-1 α en el músculo, la biogénesis mitocondrial, y una abundancia de fibras musculares de tipo I de contracción lenta⁴⁶. Sin embargo, la relevancia fisiológica de estos resultados es dudosa, puesto que resultados recientes han establecido que la proteína CaMKIV no se expresa en el músculo esquelético del ratón⁶¹. Serán necesarios nue-

vos estudios para investigar la posible relevancia de los componentes de la familia CaMK que se expresan en el músculo esquelético en lo relativo a las adaptaciones al ejercicio.

CONCLUSIONES

El ejercicio tiene una importancia crucial para los individuos con resistencia a la insulina o diabetes. Según nuestros conocimientos actuales, el efecto beneficioso más agudo del ejercicio radica en un aumento de la capacidad de inducir la captación de glucosa que es independiente de la insulina. Un importante efecto beneficioso a largo plazo del entrenamiento físico es el aumento de las capacidades oxidativas en el músculo esquelético, y probablemente también la transformación de los tipos de fibras musculares.

La actividad contráctil y la insulina son los estímulos más potentes y fisiológicamente relevantes del transporte de glucosa en el músculo esquelético. Aunque se han realizado avances importantes para descifrar la vía de señalización de la insulina que conduce a la translocación del GLUT4, la identificación de las señales que intervienen en el transporte de glucosa estimulado por la contracción ha resultado difícil debido a que hay un conjunto cada vez más amplio de datos que sugieren que hay múltiples cascadas de señalización que intervienen en los efectos metabólicos de la contracción. Concretamente, la evidencia reciente sugiere que la familia CaMK de proteincinasas y las aPKC pueden intervenir en la regulación de la captación de glucosa estimulada por la contracción. Aunque las señales proximales que conducen al transporte de glucosa estimulado por la contracción y al estimulado por la insulina son claramente distintas, los estudios recientes han indicado que se produce una reconexión o convergencia de estas señales en el AS160.

El entrenamiento físico induce un aumento de la capacidad oxidativa y cambios del tipo de fibra en el músculo esquelético, adaptaciones éstas que tienen una importancia crucial para reducir los ácidos grasos libres y el riesgo de resistencia a la insulina y diabetes. Nuevamente, las múltiples vías de señalización parecen actuar de manera sinérgica para facilitar respuestas adaptativas al entrenamiento físico. Se han identificado varias moléculas involucradas en la biogénesis mitocondrial y la inducción de tipos de fibra de contracción lenta. Concretamente, la AMPK y la calcineurina aparecen como principales candidatos en la facilitación de las adaptaciones al entrenamiento. El PGC-1 α podría ser un punto de convergencia de ambas vías. Aunque se han hecho considerables avances en la identificación de los mecanismos moleculares en los que intervienen estas moléculas, serán necesarias nuevas investigaciones para verificar su papel fisiológico en las adaptaciones del músculo esquelético al entrenamiento físico.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por subvenciones concedidas a L.J. Goodyear (National Institutes of Health R01AR45670 y R01DK068626), C.A. Witzcak (National Institutes of Health F32AR051663 y becas con tutor de la American Diabetes Association) y K.S.C. Röckl (beca en el marco del Postdoc-Program del German Academic Exchange Service, DAAD) y una Diabetes Endocrinology Research Grant (National Institutes of Health DK36836).

BIBLIOGRAFÍA

- DeFronzo RA, Ferrannini E, Sato Y, Felig P. Synergistic interaction between exercise and insulin on peripheral glucose uptake. *J Clin Invest.* 1981;68:1468-74.
- Holloszy JO. Biochemical adaptations in muscle: effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory activity in skeletal muscle. *J Biol Chem.* 1967;242:2278-82.
- Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med.* 2001;344:1343-50.
- Goodyear LJ, Kahn BB. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. *Annu Rev Med.* 1998;49:235-61.
- Kennedy JW, Hirshman MF, Gervino EV, Ocel JV, Forse RA, Hoenig SJ, et al. Acute exercise induces GLUT4 translocation in skeletal muscle of normal human subjects and subjects with type 2 diabetes. *Diabetes.* 1999;48:1192-7.
- Goodyear LJ, Giorgino F, Balon TW, Condorelli G, Smith RJ. Effects of contractile activity on tyrosine phosphoproteins and phosphatidylinositol 3-kinase activity in rat skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1995;268:E987-E995.
- Vanhaesebroeck B, Alessi DR. The PI3K-PDK1 connection: more than just a road to PKB. *Biochem J.* 2000;346 Pt 3:561-76.
- Kane S, Sano H, Liu SC, Asara JM, Lane WS, Garner CC, et al. A method to identify serine kinase substrates. Akt phosphorylates a novel adipocyte protein with a Rab GTPase-activating protein (GAP) domain. *J Biol Chem.* 2002;277:22115-8.
- Lund S, Holman GD, Schmitz O, Pedersen O. Contraction stimulates translocation of glucose transporter GLUT4 in skeletal muscle through a mechanism distinct from that of insulin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:5817-21.
- Lee AD, Hansen PA, Holloszy JO. Wortmannin inhibits insulin-stimulated but not contraction-stimulated glucose transport activity in skeletal muscle. *FEBS Lett.* 1995;361:51-4.
- Yeh JI, Gulve EA, Rameh L, Birnbaum MJ. The effects of wortmannin on rat skeletal muscle. Dissociation of signaling pathways for insulin- and contraction-activated hexose transport. *J Biol Chem.* 1995;270:2107-11.
- Wojtaszewski JF, Higaki Y, Hirshman MF, Michael MD, Dufresne SD, Kahn CR, et al. Exercise modulates postreceptor insulin signaling and glucose transport in muscle-specific insulin receptor knockout mice. *J Clin Invest.* 1999;104:1257-64.
- Hayashi T, Hirshman MF, Kurth EJ, Winder WW, Goodyear LJ. Evidence for 5' AMP-activated protein kinase mediation of the effect of muscle contraction on glucose transport. *Diabetes.* 1998;47:1369-73.
- Fujii N, Hirshman MF, Kane EM, Ho RC, Peter LE, Seifert MM, et al. AMP-activated Protein Kinase {alpha}2 Activity Is Not Essential for Contraction- and Hyperosmolarity-induced Glucose Transport in Skeletal Muscle. *J Biol Chem.* 2005;280:39033-41.
- Mu J, Brozinick JT, Jr., Valladares O, Bucan M, Birnbaum MJ. A role for AMP-activated protein kinase in contraction- and hypoxia-regulated glucose transport in skeletal muscle. *Mol Cell.* 2001;7:1085-94.
- Wright DC, Hucker KA, Holloszy JO, Han DH. Ca²⁺ and AMPK both mediate stimulation of glucose transport by muscle contractions. *Diabetes.* 2004;53:330-5.
- Witzcak CA, Fujii N, Hirshman MF, Goodyear LJ. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase- α regulates skeletal muscle glucose uptake independent of AMP-activated protein kinase and Akt activation. *Diabetes.* 2007;56:1403-9.
- Jensen TE, Rose AJ, Jorgensen SB, Brandt N, Schjerling P, Wojtaszewski JF, et al. Possible CaMKK-dependent regulation of AMPK phosphorylation and glucose uptake at the onset of mild tetanic skeletal muscle contraction. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292:E1308-17.
- Brozinick JT, Jr., Reynolds TH, Dean D, Cartee G, Cushman SW. 1-[N, O-bis-(5-isoquinolinesulphonyl)-N-methyl-L-tyrosyl]-4-phenylpiperazine (KN-62), an inhibitor of calcium-dependent calmodulin protein kinase II, inhibits both insulin- and hypoxia-stimulated glucose transport in skeletal muscle. *Biochem J.* 1999;339:533-40.
- Cleland PJ, Appleby GJ, Rattigan S, Clark MG. Exercise-induced translocation of protein kinase C and production of diacylglycerol and phosphatidic acid in rat skeletal muscle in vivo. Relationship to changes in glucose transport. *J Biol Chem.* 1989;264:17704-11.
- Newton AC. Protein kinase C: structural and spatial regulation by phosphorylation, cofactors, and macromolecular interactions. *Chem Rev.* 2001;101:2353-64.
- Henriksen EJ, Sleeper MD, Zierath JR, Holloszy JO. Polymyxin B inhibits stimulation of glucose transport in muscle by hypoxia or contractions. *Am J Physiol.* 1989;256:E662-7.
- Rose AJ, Michell BJ, Kemp BE, Hargreaves M. Effect of exercise on protein kinase C activity and localization in human skeletal muscle. *J Physiol.* 2004;561:861-70.
- Chen HC, Bandyopadhyay G, Sajan MP, Kanoh Y, Standaert M, Farese RV, Jr., et al. Activation of the ERK pathway and atypical protein kinase C isoforms in exercise - and aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribose (AICAR)-stimulated glucose transport. *J Biol Chem.* 2002;277:23554-62.
- Aschenbach WG, Ho RC, Sakamoto K, Fujii N, Li Y, Kim YB, et al. Regulation of Dishevelled and {beta}-catenin in Rat Skeletal Muscle: An Alternative Exercise-induced GSK-3{beta} Signaling Pathway. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;291:E152-8.
- Bandyopadhyay G, Standaert ML, Kikkawa U, Ono Y, Moscat J, Farese RV. Effects of transiently expressed atypical (zeta, lambda), conventional (alpha, beta) and novel (delta, epsilon) protein kinase C isoforms on insulin-stimulated translocation of epitope-tagged GLUT4 glucose transporters in rat adipocytes: specific interchangeable effects of protein kinases C-zeta and C-lambda. *Biochem J.* 1999;337:461-70.
- Condorelli G, Vigliotta G, Trencia A, Maitan MA, Caruso M, Miele C, et al. Protein kinase C (PKC)-alpha activation inhibits PKC-zeta and mediates the action of PED/PEA-15 on glucose transport in the L6 skeletal muscle cells. *Diabetes.* 2001;50:1244-52.
- Wojtaszewski JF, Lynge J, Jakobsen AB, Goodyear LJ, Richter EA. Differential regulation of MAP kinase by contraction and insulin in skeletal muscle: Metabolic implications. *Am J Physiol.* 1999;277:E724-E32.
- Sano H, Kane S, Sano E, Miinea CP, Asara JM, Lane WS, et al. Insulin-stimulated Phosphorylation of a Rab GTPase-activating Protein Regulates GLUT4 Translocation. *J Biol Chem.* 2003;278:14599-602.
- Thong FS, Dugani CB, Klip A. Turning signals on and off: GLUT4 traffic in the insulin-signaling highway. *Physiology (Bethesda).* 2005;20:271-84.
- Kramer HF, Witzcak CA, Fujii N, Jessen N, Taylor EB, Arnolds DE, et al. Distinct signals regulate AS160 phosphorylation in response to insulin, AICAR, and contraction in mouse skeletal muscle. *Diabetes.* 2006;55:2067-76.
- Kramer HF, Witzcak CA, Taylor EB, Fujii N, Hirshman MF, Goodyear LJ. AS160 regulates insulin- and contraction-stimula-

- ted glucose uptake in mouse skeletal muscle. *J Biol Chem.* 2006;281:31478-85.
33. Constable SH, Favier RJ, Uhl J, Holloszy JO. Bradykinin does not mediate activation of glucose transport by muscle contraction. *J Appl Physiol.* 1986;61:881-4.
 34. Bates SH, Gardiner JV, Jones RB, Bloom SR, Bailey CJ. Acute stimulation of glucose uptake by leptin in I6 muscle cells. *Horm Metab Res.* 2002;34:111-5.
 35. Sandstrom ME, Zhang SJ, Bruton J, Silva JP, Reid MB, Westerbald H, et al. Role of reactive oxygen species in contraction-mediated glucose transport in mouse skeletal muscle. *J Physiol.* 2006;575:251-62.
 36. Higaki Y, Hirshman MF, Fujii N, Goodyear LJ. Nitric oxide increases glucose uptake through a mechanism that is distinct from the insulin and contraction pathways in rat skeletal muscle. *Diabetes.* 2001;50:241-7.
 37. Pette D, Staron RS. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem. Cell Biol.* 2001;115:359-72.
 38. Yu C, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, Wang Y, et al. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem.* 2002;277:50230-6.
 39. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science.* 2005;307:384-7.
 40. Marin P, Andersson B, Krotkiewski M, Bjorntorp P. Muscle fiber composition and capillary density in women and men with NIDDM. *Diabetes Care.* 1994;17:382-6.
 41. Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V, et al. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell.* 1999;98:115-24.
 42. Lin J, Wu H, Tarr PT, Zhang CY, Wu Z, Boss O, et al. Transcriptional co-activator PGC-1 alpha drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature.* 2002;418:797-801.
 43. Czubyrt MP, McAnally J, Fishman GI, Olson EN. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha) and mitochondrial function by MEF2 and HDAC5. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:1711-6.
 44. Baar K, Wende AR, Jones TE, Marison M, Nolte LA, Chen M, et al. Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *FASEB J.* 2002;16:1879-86.
 45. Lee WJ, Kim M, Park HS, Kim HS, Jeon MJ, Oh KS, et al. AMPK activation increases fatty acid oxidation in skeletal muscle by activating PPARalpha and PGC-1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;340:291-5.
 46. Wu H, Kanatous SB, Thurmond FA, Gallardo T, Isotani E, Bassel-Duby R, et al. Regulation of Mitochondrial Biogenesis in Skeletal Muscle by CaMK. *Science.* 2002;296:349-52.
 47. Bergeron R, Ren JM, Cadman KS, Moore IK, Perret P, Pypaert M, et al. Chronic activation of AMP kinase results in NRF-1 activation and mitochondrial biogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281:E1340-E6.
 48. Winder WW, Holmes BF, Rubink DS, Jensen EB, Chen M, Holloszy JO. Activation of AMP-activated protein kinase increases mitochondrial enzymes in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2000;88:2219-26.
 49. Zong H, Ren JM, Young LH, Pypaert M, Mu J, Birnbaum MJ, et al. AMP kinase is required for mitochondrial biogenesis in skeletal muscle in response to chronic energy deprivation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:15983-7.
 50. Jorgensen SB, Trebak JT, Viollet B, Schjerling P, Vaulont S, Wojtaszewski JF, et al. Role of {alpha}2-AMPK in basal, training- and AICAR-induced GLUT4, hexokinase II and mitochondrial protein expression in mouse muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292:E331-9.
 51. Röckl KS, Hirshman MF, Brandauer J, Fujii N, Witters LA, Goodyear LJ. Skeletal muscle adaptation to exercise training: AMP-activated protein kinase mediates muscle fiber type shift. *Diabetes.* 2007;56:2062-9.
 52. Chin ER, Olson EN, Richardson JA, Yang Q, Humphries C, Shelton JM, et al. A calcineurin-dependent transcriptional pathway controls skeletal muscle fiber type. *Genes Dev.* 1998;12:2499-509.
 53. Chakkalakal JV, Stocksley MA, Harrison MA, Angus LM, Deschenes-Furry J, St Pierre S, et al. Expression of utrophin A mRNA correlates with the oxidative capacity of skeletal muscle fiber types and is regulated by calcineurin/NFAT signaling. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:7791-6.
 54. Naya FJ, Mercer B, Shelton J, Richardson JA, Williams RS, Olson EN. Stimulation of slow skeletal muscle fiber gene expression by calcineurin in vivo. *J Biol Chem.* 2000;275:4545-8.
 55. Ryder JW, Bassel-Duby R, Olson EN, Zierath JR. Skeletal muscle reprogramming by activation of calcineurin improves insulin action on metabolic pathways. *J Biol Chem.* 2003;278:44298-304.
 56. Schaeffer PJ, Wende AR, Magee CJ, Neilson JR, Leone TC, Chen F, et al. Calcineurin and calcium/calmodulin-dependent protein kinase activate distinct metabolic gene regulatory programs in cardiac muscle. *J Biol Chem.* 2004;279:39593-603.
 57. Goy JJ, Stauffer JC, Deruaz JP, Gillard D, Kaufmann U, Kuntzer T, et al. Myopathy as possible side-effect of cyclosporin. *Lancet.* 1989;1:1446-7.
 58. García-Roves PM, Huss J, Holloszy JO. Role of calcineurin in exercise-induced mitochondrial biogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290:E1172-E9.
 59. Terada S, Nakagawa H, Nakamura Y, Muraoka I. Calcineurin is not involved in some mitochondrial enzyme adaptations to endurance exercise training in rat skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol.* 2003;90:210-7.
 60. Wu H, Naya FJ, McKinsey TA, Mercer B, Shelton JM, Chin ER, et al. MEF2 responds to multiple calcium-regulated signals in the control of skeletal muscle fiber type. *EMBO J.* 2000;19:1963-73.
 61. Akimoto T, Ribar TJ, Williams RS, Yan Z. Skeletal muscle adaptation in response to voluntary running in Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase IV-deficient mice. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2004;287:C1311-C9.