



Glucagón y la hipótesis bihormonal de la diabetes

Freddy González-Mujica¹.

¹Médico Cirujano. PhD. en Bioquímica Sección de Bioquímica Médica, Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela freddygonzalezmujica@gmail.com

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 12 de Septiembre del 2019 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

El glucagón es una hormona polipeptídica de 29 aminoácidos, producida por las células α de los islotes pancreáticos en respuesta a hipoglicemia y otras situaciones de estrés. Su gen se encuentra localizado en brazo largo del cromosoma 2 y se expresa además de en las células α , en las células L de la mucosa intestinal y en algunas neuronas del tallo cerebral. Es sintetizado como una proteína de 180 aminoácidos, el preproglucagón, que es procesado de manera diferente dependiendo de las células donde se produce, dando entre otros péptidos: glucagón, glicentina, GLP1, GLP2, oxyntomodulina, entre otros. La glicemia es el estímulo fisiológico para la secreción de glucagón, siendo otros factores importantes: la insulina, la amilina, la somatostatina, GABA, el Zn⁺⁺, la leptina, los aminoácidos y los ácidos grasos. La concentración de ATP, producto del metabolismo de las células α , modifica la actividad del canal de K⁺, lo cual se traduce en cambios de la polaridad de la membrana celular, permitiendo o no la entrada de Ca⁺⁺ y Na⁺ que condicionan la exocitosis de glucagón. El receptor del glucagón, GcGR, se encuentra fundamentalmente en hígado y riñón, pero también está presente en tejido adiposo, corazón y páncreas endocrino entre otros. A partir del receptor existen 2 vías de señalización dependientes de proteínas G, que tienen efectos metabólicos y genéticos. El glucagón incrementa, a nivel hepático, la glucogenólisis y la

neoglucogénesis e inhibe la glucogenogénesis y la glicolisis por lo cual se produce hiperglicemia. En el tejido adiposo, el glucagón aumenta la lipólisis e inhibe la lipogénesis, que trae como consecuencia aumento de los ácidos grasos libres del plasma, en el hígado dichos ácidos grasos son β oxidados potenciando la síntesis de cuerpos cetónicos, condicionando hipercetonemia. El glucagón produce que el hígado capte aminoácidos circulantes y a partir del grupo amino de los mismos se incremente la síntesis de urea, el resto del aminoácido es usado en la neoglucogénesis. Todas las formas de diabetes cursan con hiperglucagonemia, y en el presente las evidencias sugieren fuertemente que las manifestaciones de la diabetes no pueden ser explicadas solo por la deficiencia de insulina, y que una función anormal de las células α pancreáticas, y en consecuencia una hipercetonemia, sean un factor determinante de la magnitud de la hiperglicemia y de la hipercetonemia de la diabetes. Estas observaciones indujeron a Unger y Orci a postular la "hipótesis bihormonal" de la diabetes, según la cual tanto la disminución de la insulina como el aumento del glucagón son responsables de las alteraciones metabólicas del diabético. Si el aumento de la secreción de glucagón es responsable de las alteraciones metabólicas de la diabetes mellitus, la modulación de dicha secreción y/o de sus efectos pudiera resultar beneficiosa en el tratamiento de la enfermedad. Se han ensayado varios mecanismos destinados a bloquear la señalización de GcGR con algún éxito y con algunos efectos secundarios indeseados. La inhibición de la secreción de glucagón, por el uso de amilina o leptina en DMT1, ha arrojado resultados muy prometedores. Por otro lado, derivados del glucagón resultantes de su unión con otros péptidos tales como GLP1, están siendo usados en el tratamiento de la obesidad con éxito.

PALABRAS CLAVE: Glucagón, preproglucagón, proglucagón, hiperglucagonemia, diabetes, células α , hipótesis bihormonal, leptina, amilina

GLUCAGON AND THE BIHORMONAL HYPOTESIS OF THE DIABETES

SUMMARY

Glucagon is a polypeptide hormone of 29 amino acids, produced by α cells of the pancreatic islet in respond to the hypoglycaemia and other stress conditions. Its gen is localized in the large arm of the chromosome 2, and it is also expressed in the L cells of the intestinal mucosa and in some neurons of the brain stem. It is synthetized as a protein of 180 amino acids, preproglucagon, which is processed in different ways dependent, in where it is produced, given few different peptides such as: glucagon, glicentin, GLP1, GLP2, oxyntomodulin, among other. The glycaemia is the physiological stimulus for the glucagon secretion, being other important factors: insulin, amylin, somatostatin, GABA, Zn $^{++}$, leptin, amino acid and free fatty acid. The ATP concentration, product of the α cell metabolism, modify the activity of the K $^{+}$ channels, changing the polarity of the cell membrane, which open or close the Ca $^{++}$ and Na $^{+}$ channels conditioning glucagon exocytosis. The glucagon receptor, GcGR, is found mainly in liver and kidney, but it is also present in adipose tissue, heart and endocrine pancreas, among other. There are 2 signals pathways starting from the receptor, each one dependent on G proteins with metabolic and genetic effects. In the liver, glucagon increases glycogenolysis and gluconeogenesis and decreases glycogenesis and glycolysis with the consequence increase in the glycaemia. In the adipose tissue, glucagon increases lipolysis and decreases lipogenesis with the result of an increase in the plasma free fatty acids, which in the liver are β

oxidized potentiating the ketone body synthesis, conditioning hyperketonemia. Glucagon stimulates amino acids uptake by the liver from the circulation, the amino group increases the synthesis of urea and the rest of the amino acid is used for gluconeogenesis. All forms of diabetes presents hyperglucagonemia, and at present the evidences strongly suggest that the manifestations of the disease cannot be explained only by the deficiency of insulin and that an abnormal function of α pancreatic cells with the consequence hyperglucagonemia, must be determinant in the magnitude of the hyperglycaemia and hyperketonemia of the diabetes. These observations induce Unger and Orci to postulate the bihormonal hypothesis of the diabetes, according with it, the decrease in insulin and the increase in glucagon are responsible for the metabolic alteration of the disease. If the increase in the glucagon secretion is responsible for the metabolic alterations in diabetes mellitus, modulating such secretion and/or its effects could be beneficial in the treatment of the disease. A few different mechanisms have been assayed in order to block the GcGR signaling pathway with some success and some undesired secondary effects have been observed. The inhibition of the glucagon secretion by the use of amylin or leptin in DMT1, have given very promising results. On the other hand, glucagon have been bound to some peptides such as GLP1, the resulted molecule are in use to treat obesity with success.

KEY WORDS: Glucagon, preproglucagon, proglucagon, hyperglucagonemia, α , cell, insulin, diabetes, bihormonal hypothesis, amylin, leptin

GLUCAGÓN Y LA HIPÓTESIS BIHORMONAL DE LA DIABETES

INTRODUCCIÓN

El inicio del estudio del glucagón no fue muy prometedor, ya que originalmente se descubrió como un contaminante de las preparaciones de insulina y que además ejercía un efecto hiperglicemiante indeseado. Kimball y Murlin¹ lo designaron glucagón por la contracción de las primeras letras de las palabras del inglés: GLUCose y AGONist; 25 años después Sutherland y col.² lo purificaron y poco después su secuencia de aminoácidos fue establecida³. La purificación del glucagón permitió el desarrollo de los primeros radioinmunoensayos⁴ con lo cual se encontró la existencia de varios péptidos relacionados. Por métodos inmunohistoquímicos se demostró que las células α de los islotes pancreáticos sintetizan el glucagón⁵. Los trabajos de Sutherland y colaboradores⁶, relacionados con la vía de señalización de esta hormona, les permitió descubrir la existencia del adenosin mono fosfato cíclico (AMPc) como segundo mensajero. Unger y colaboradores⁷ demostraron la existencia de altos niveles de glucagón (hiperglucagonemia) en todas las formas de diabetes, sugiriendo una relación entre esta hormona y la patogenia de la enfermedad.

La actividad hiperglicemiante fue el efecto biológico primeramente establecido para el glucagón y se demostró que el mismo es debido a un aumento en la degradación del glucógeno hepático (glucogenólisis) e incremento de la síntesis de glucosa (neoglucogénesis) por el hígado⁸. Posteriormente se demostró que el glucagón no solo tiene efectos sobre el metabolismo de la glucosa sino que ejerce un efecto multifacético incluyendo: regulación de la ingesta de alimentos por efectos sobre el sistema nervioso central⁹; aumento del gasto energético, probablemente por estimulación del tejido adiposo marrón¹⁰; aumento del

catabolismo de aminoácidos e incremento de la ureogénesis¹¹; activación de la lipólisis, incremento de la cetogénesis e inhibición de la síntesis de lípidos¹²; mejora del gasto cardíaco¹³; estimulación de la filtración glomerular con reabsorción de agua¹⁴ y estimulación de la autofagia¹⁵.

El propósito del siguiente trabajo es el de discutir aspectos relacionados con: la estructura, síntesis, secreción, mecanismo de acción, efectos biológicos y la relación con la diabetes y su tratamiento del glucagón; así mismo haremos mención de la posible utilidad de ésta hormona en el tratamiento de la obesidad.

CITOARQUITECTURA DE LOS ISLOTES PANCREÁTICOS

En los islotes de Langerhans se encuentran 4 tipos de células, la mayoría de ellas corresponde a las células α encargadas de la producción de glucagón y las células β productoras de insulina; una minoría corresponde a las células δ encargadas de la producción de somatostatina y las células liberadoras del polipéptido pancreático (células PP). En el hombre las células β representan el 48-59 %, las α el 33-46%, las δ menos del 10 % y las PP \approx 1 % de todas las células endocrinas, la relativa abundancia de las células α en humanos en comparación con otras especies sugiere un papel más importante del glucagón en el control de la glicemia en el hombre. En humanos las células de los islotes se distribuyen de manera aleatoria de tal forma que las células β están en contacto con células no productoras de insulina sugiriendo un papel importante del control paracrino de las células de los islotes pancreáticos en esta especie¹⁶.

SÍNTESIS DEL GLUCAGÓN

El glucagón, como un buen número de proteínas, resulta del procesamiento de un precursor de mayor peso molecular, el preproglucagon cuyo gen (Gcg) se encuentra localizado en brazo largo del cromosoma 2 (2q36-37)¹⁷. El gen Gcg consta de 10 Kb, está formado por 6 exones y 5 intrones, el ARNm que lo codifica es idéntico en los tejidos donde se expresa, a saber: células α de los islotes pancreáticos, células L de la mucosa intestinal y algunas neuronas del núcleo del tracto solitario del tallo cerebral¹⁸. El preproglucagon está formado por 180 aminoácidos, de los cuales los 20 primeros forman el péptido señal, el mismo es escindido tan pronto entra a la cisterna del retículo endoplasmático, los 160 aminoácidos restantes constituyen el proglucagon el cual es procesado de manera diferente dependiendo del tejido (Figura 1).

En las células α de los islotes pancreáticos, la existencia de la convertasa de prohormona 2 (PC2, por sus siglas en inglés), condiciona el procesamiento postraduccional del proglucagon para dar origen a los siguientes péptidos (Figura 1): polipéptido pancreático relacionado con la glicentina (GRPP por sus siglas en inglés) que contiene los aminoácidos 1 al 30; el glucagón el cual está formado por los residuos 33 al 61; un fragmento (residuos 62-71) denominado péptido intermedio 1 (IP1 por sus siglas en inglés) y un péptido llamado fragmento mayor del proglucagon (MPCF por sus siglas en inglés) constituido por los aminoácidos 72 al 158¹⁸. En las células L de la mucosa intestinal y en algunas neuronas del tallo cerebral participa la

convertasa de prohormona 1/3(PC1/3, por sus siglas en inglés) dando lugar a diferentes procesamientos con la formación de (Figura 1): glicentina, residuos 1 al 69 ó polipéptido pancreático relacionado con la glicentina (GRPP, residuos 1 al 30) y oxyntomodulina (OMX, residuos 33 al 69); los otros péptidos formados son: el péptido semejante al glucagón 1 (GLP1 por sus siglas en inglés, restos 72 al 107); el péptido intermedio 2 (IP2 por sus siglas en inglés, restos 108 al 125); y el péptido semejante al glucagón 2 (GLP2 por sus siglas en inglés, restos 126 al 158)¹⁸.

En las células L de la mucosa intestinal y en algunas neuronas del tallo cerebral participa la convertasa de prohormona 1/3(PC1/3, por sus siglas en inglés) dando lugar a diferentes procesamientos con la formación de (Figura 1): glicentina, residuos 1 al 69 ó polipéptido pancreático relacionado con la glicentina (GRPP, residuos 1 al 30) y oxyntomodulina (OMX, residuos 33 al 69); los otros péptidos formados son: el péptido semejante al glucagón 1 (GLP1 por sus siglas en inglés, restos 72 al 107); el péptido intermedio 2 (IP2 por sus siglas en inglés, restos 108 al 125); y el péptido semejante al glucagón 2 (GLP2 por sus siglas en inglés, restos 126 al 158)¹⁸

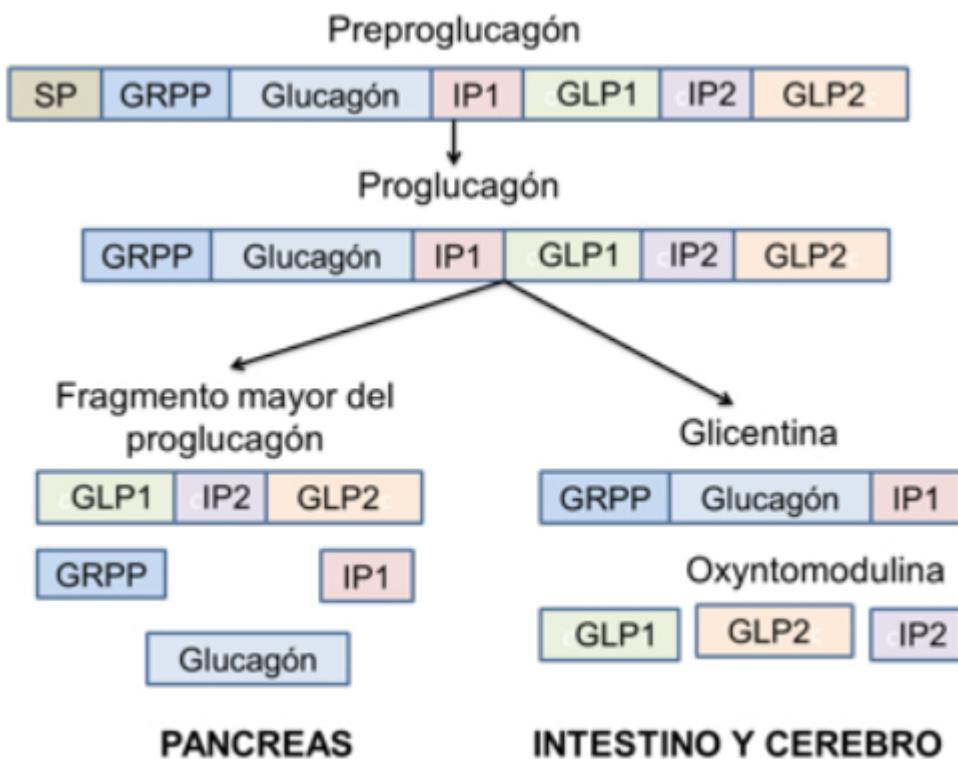


Figura 1. Procesamiento postraduccional del preproglucagón. La expresión del gen Gcg es un polipéptido de 180 aminoácidos denominado preproglucagón, los primeros 20 restos constituyen el péptido señal (SP) que es eliminado prontamente resultando el proglucagón el cual es procesado de manera diferente dependiendo del tejido. En las células α pancreáticas por acción de la convertasa de prohormona 2 (PC2) da origen a los siguientes péptidos: el polipéptido pancreático relacionado con la glicentina (GRPP); el glucagón; el péptido intermedio 1 (IP1) y el fragmento mayor del proglucagón formado por los péptidos similares al glucagón 1 y 2 (GLP1 y GLP2) y el péptido intermedio 2 (IP2). En las células L del intestino y

en algunas neuronas del tallo cerebral la existencia de PC1/3 permite el origen de glicentina (unión de GRPP, glucagon e IP1) o GRPP más oxyntomodulina (unión de glucagón e IP1), los otros péptidos originados son GLP1, GLP2 e IP2. Para más detalles ver el texto.

El glucagón es un polipéptido formado por 29 aminoácidos³, tiene un peso molecular de 3485 dalton, con una composición de aminoácidos y estructura primaria que hace que para poder solubilizarlo se requieran condiciones de pH no fisiológicas dificultando su uso farmacológico (**Figura 2**)



Figura 2. Secuencia de aminoácidos del glucagón

SECRECIÓN DE GLUCAGÓN

La secreción de glucagón por las células α de los islotes pancreáticos es estimulada en condiciones de hipoglicemia y disminuye cuando la glucosa sanguínea aumenta. Siendo la glucosa un factor determinante en la secreción de glucagón, los islotes de Langerhans están muy vascularizados para permitir una rápida y adecuada estimación de la glicemia¹⁹.

La entrada de glucosa a las células α es mediada por el transportador de glucosa 1 (GLUT 1, por sus siglas en inglés), que posee un $KM \approx 1$ mM, el cual es considerablemente menor que la concentración habitual de glucosa sanguínea ($\approx 5,5$ mM) garantizando una continua entrada del carbohidrato a dichas células; el catabolismo de la glucosa permite la formación de ATP, incrementándose la concentración del mismo y la reducción de ADP¹⁹.

Similar a la secreción de insulina por las células β , la secreción de glucagón por las células α ocurre por la liberación de un pool almacenado de la hormona, iniciado por un estímulo adecuado. Aún más, las células α y β comparten mucha de la maquinaria relacionada con la secreción de las hormonas, tales como: receptores de membrana, canales iónicos específicos y proteínas relacionadas con la exocitosis.

En las células α existen varios canales iónicos, entre los cuales, son de particular interés los canales de K^+ sensibles a ATP (KATP), que al cerrarse, por aumento de la concentración de ATP, incrementan la concentración intracelular del ion despolarizándose la membrana plasmática. Los canales de Ca^{++} y los canales de Na^+ , ambos dependientes de voltaje, son también importantes en el funcionamiento de las células α ¹⁹.

En condiciones de una alta concentración de glucosa se incrementa la concentración de ATP, se cierran los canales de KATP, se hiperpolariza la membrana plasmática de tal manera que los canales de Ca^{++} y los de Na^+ dependientes de voltaje se inactivan, por lo cual ni el Ca^{++} ni el Na^+ entran a las células α , inhibiéndose la exocitosis del glucagón. Por el contrario en condiciones de baja concentración de glucosa, y en consecuencia bajos niveles de ATP, los canales de KATP se cierran, el potencial de membrana cambia de tal manera que los canales

de Ca^{++} y de Na^{+} dependientes de voltaje se abren, entran ambos iones con lo cual se estimula la exocitosis de los gránulos de glucagón, el cual pasa a la circulación general (Figura 3)¹⁹.

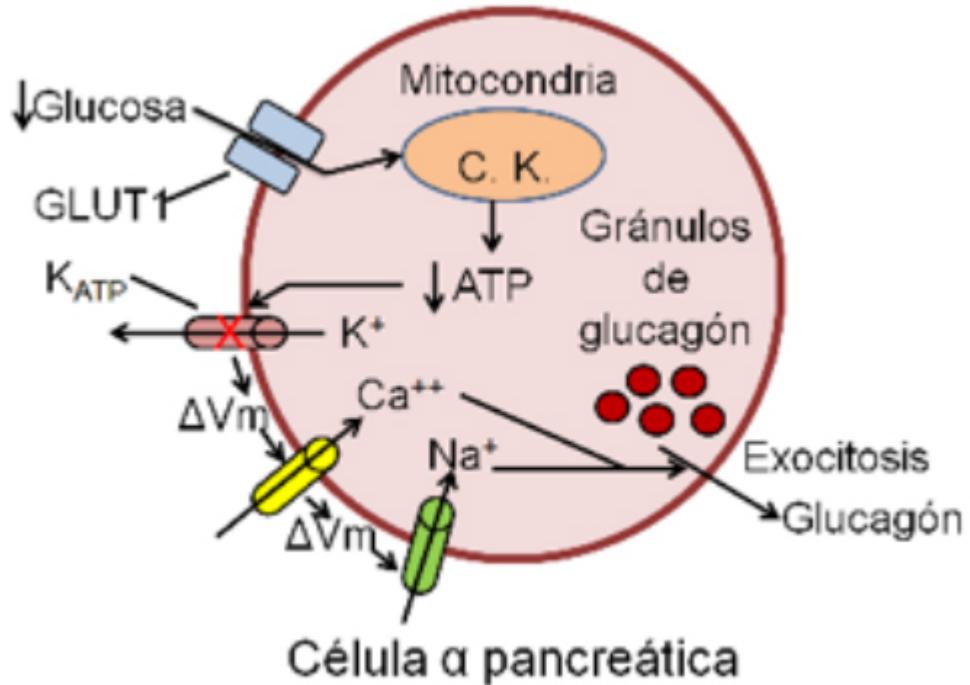


Figura 3. Secrección de glucagón. En condiciones de una baja concentración sanguínea de glucosa, la cantidad de la hexosa que entra a las células α de los islotes pancreáticos, mediado por el GLUT1, es baja, trayendo como consecuencia una disminución del ATP celular, por reducción del catabolismo de la glucosa, lo cual condiciona el cierre de los canales de KATP que modifica el potencial de membrana de tal manera que los canales de Ca^{++} y de Na^{+} , dependientes de voltaje se abren, entrando ambos iones estimulándose la exocitosis de los gránulos de glucagón.

REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE GLUCAGÓN

La secreción de glucagón está regulada por factores paracrinos, endocrinos, el sistema nervioso autónomo y por cambios en la concentración de metabolitos en sangre. Las señales paracrinas incluyen: insulina, GABA, amilina, Zn^{++} y somatostatina; entre los factores endocrinos están: los péptidos hormonales: el péptido similar al glucagón¹ (GLP1, por sus siglas en inglés) y el péptido insulinotropico dependiente de glucosa (GIP, por sus siglas en inglés) y la leptina, así mismo los ácidos grasos libres y algunos aminoácidos regulan la liberación de glucagón.

Las células α poseen receptores para la insulina, en respuesta a la interacción de la hormona con su receptor se activa la vía de señalización del fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K, por sus

siglas en inglés)²⁰, modulando de manera indirecta la actividad de los canales de KATP con la consecuente hiperpolarización de la membrana inhibiéndose la secreción de glucagón²¹. La insulina, además promueve la translocación a la membrana plasmática de un receptor tipo A de GABA, (amina secretada por las células β), dicho receptor responde favoreciendo la hiperpolarización de la membrana suprimiendo la secreción de glucagón²¹. Se ha postulado que el zinc, liberado junto con la insulina, de forma independiente puede inducir hiperpolarización de la membrana a través del canal de KATP, actuando de manera sinérgica con la insulina en la regulación de la secreción de glucagón²¹. Otro producto de las células β , la amilina inhibe la secreción de glucagón de una manera indirecta.

En las células α , la somatostatina inhibe la secreción de glucagón por la estimulación de los canales de KATP con la consecuente hiperpolarización de la membrana y el cierre de los canales dependientes de voltaje²². GLP1 y GIP al ser incretinas estimulan la secreción de insulina y en consecuencia inhiben la secreción de glucagón de manera indirecta²¹. La leptina, hormona producida por el tejido adiposo, inhibe la liberación de glucagón probablemente por la activación de núcleos en el sistema nervioso central²³.

Estudios en perros y humanos indican que el aumento de la concentración de ácidos grasos libres inhibe la secreción de glucagón²⁵, por otro lado, ensayos realizados en roedores muestran un incremento en la secreción de glucagón en respuesta a un incremento en los ácidos grasos libres²⁶.

La administración de aminoácidos esenciales incrementa la secreción tanto de insulina como de glucagón, siendo el aminoácido más potente la arginina. El efecto de los aminoácidos sobre la secreción de glucagón es bloqueado por la administración conjunta de glucosa; sugiriendo un papel importante del glucagón en la prevención de la hipoglicemia debido a la hiperinsulinemia inducida por aminoácidos²⁷.

Un incremento en la secreción de glucagón se presenta en pacientes en diferentes situaciones de estrés tales como: quemaduras, cirugía, sepsis, infarto al miocardio, entre otras, lo cual contribuye a la hiperglicemia que acompaña estas situaciones. El incremento en la secreción de glucagón por las células α en las condiciones de estrés son consecuencia de la inervación simpática y de la acción sistémica de las catecolaminas.²⁸

GLUCAGÓN PLASMÁTICO

Aun cuando la medición de la glucagonemia no se realiza de manera rutinaria en la práctica médica, algunos aspectos son interesantes de mencionar. Algunos de los péptidos derivados del procesamiento del proglucagón, tales como la glicentina y oxyntomodulina, pasan a la circulación general y reaccionan con los anticuerpos desarrollados originalmente para la detección del glucagón modificando sustancialmente los valores de la glucagonemia. Las

técnicas actuales han incrementado la especificidad de los anticuerpos a un 90-95 %. En humanos, en condiciones normales, la concentración de glucagón en la sangre periférica varía entre 25 y 150 pg/mL ($\text{pg} = 10^{-12} \text{ g}$), siendo en la vena porta entre 1,5 y 3 veces superior²⁹.

El hígado capta aproximadamente el 60 % del glucagón presente en la sangre portal, mientras que el riñón atrapa entre el 23 y el 39 % de la hormona presente en la sangre que lo irriga²⁹.

RECEPTOR Y SEÑALIZACIÓN DEL GLUCAGÓN

El receptor del glucagón (GcGR) es una proteína de 7 hélices transmembrana ubicada en la superficie celular, está asociada a proteínas G (GPCR, por sus siglas en inglés) y se expresa fundamentalmente en hígado, sin embargo, pequeñas cantidades se encuentran en riñón, tejido adiposo, linfoblastos, bazo, páncreas, cerebro, glándula suprarrenal y tracto gastrointestinal³⁰. Es importante destacar que GcGR se expresa en las células α y β de los islotes pancreáticos³¹.

La unión del glucagón a su receptor condiciona la activación de al menos 2 tipos de proteínas G, (Figura 4) una de ellas relacionada con la producción de AMPc ($G_{\alpha s}$) y la otra, una proteína Gq conectada con la vía de señalización del inositol 1; 4; 5 trifosfato (IP3, por sus siglas en inglés). La activación de la proteína Gq conduce al incremento de actividad de la fosfolipasa C la cual hidroliza al fosfatidil inositol 4; 5 bifosfato (PIP2, por sus siglas en inglés) para dar IP3 y diacilglicérido, los cuales funcionan como segundos mensajeros. El IP3, por ser soluble en agua, viaja por el citosol hasta el retículo endoplasmático donde abre los canales de Ca^{++} , el incremento citosólico de este ion activa la calcineurina la cual defosforila al coactivador 2 de la transcripción regulado por la proteína que une al elemento que responde al AMPc (CRTC2, también llamado TORC2, por sus siglas en inglés), que en esta condición puede migrar al núcleo donde regula la transcripción (Figura 4) como discutiremos más adelante³².

La activación de la proteína $G_{\alpha s}$ por el glucagón, estimula a la enzima adenilato ciclase, (Figura 4) la cual a partir de ATP produce AMPc que se une a la subunidad reguladora de la proteína quinasa A (PKA por sus siglas en inglés) quedando libre y activa la subunidad catalítica de dicha enzima. La subunidad catalítica de PKA, fosforila y en consecuencia modifica la actividad de enzimas claves del metabolismo de carbohidratos, como discutiremos más adelante. Además, la subunidad catalítica de PKA, migra al núcleo donde fosforila a la proteína que une al elemento que responde a AMPc (CREB, por sus siglas en inglés) el cual se une a las regiones promotoras de algunos genes activando su expresión, tales como los de las enzimas neoglucogénicas: fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y glucosa-6-fosfatasa, así como el del coactivador 1 α del receptor activado de proliferación de peroxisomas (PGC1 α)³³. En condiciones de baja concentración de ATP y en presencia de niveles altos de

Ca⁺⁺ y/o de AMPc se activa la calcineurina la cual defosforila a CRTC2 que migra al núcleo donde incrementa los efectos de CREB sobre la expresión de genes.³³

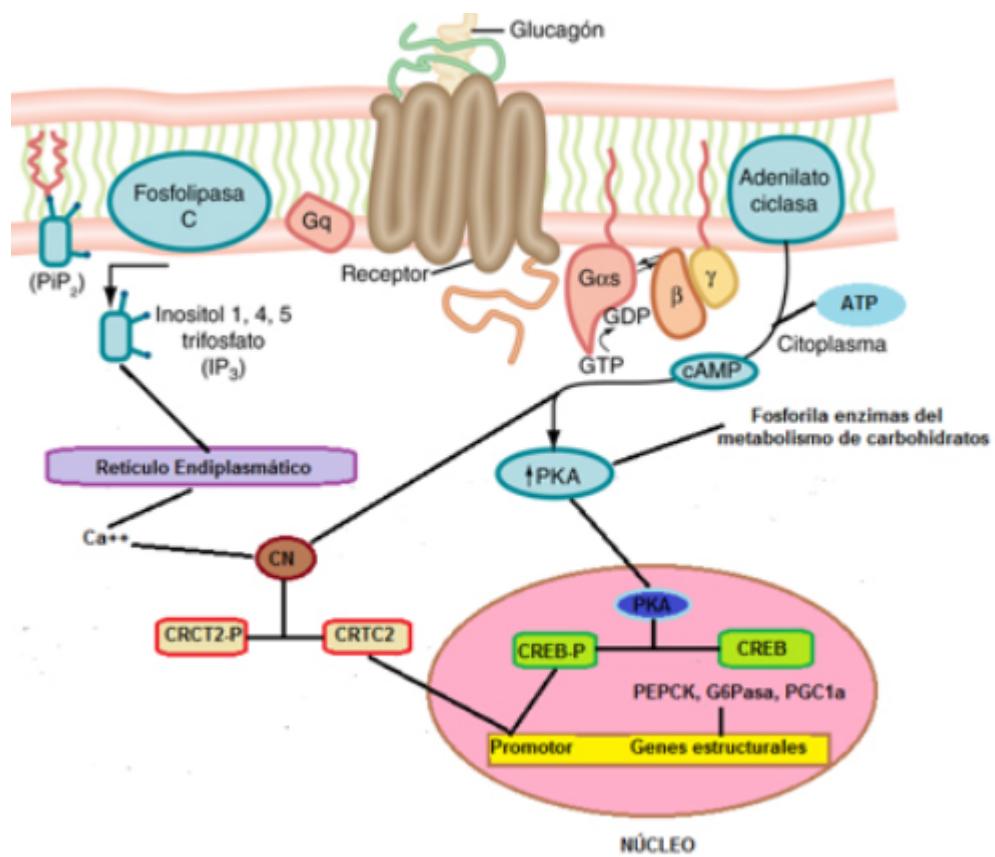


Figura 4. Señalización del glucagón. El receptor del glucagón, GcGR, es una proteína de 7 hélices transmembrana que se une a 2 tipos de proteínas G. Cuando la hormona se une a su receptor activa a la proteína Gq la cual estimula a la fosfolipasa C que hidroliza al fosfatidil inositol bifosfato (PIP2) produciendo inositol trifosfato (IP3) el cual activa la liberación de Ca⁺⁺ del retículo endoplasmático, el incremento de la concentración de dicho ion, activa a la calcineurina (CN, que también puede ser activada por AMPc), que defosforila al coactivador 2 de la transcripción regulado por la proteína que une al elemento que responde al AMPc (CRTC2), el cual migra al núcleo donde regula la transcripción. La modulación del otro tipo de proteína G, la G_{αs}, activa la enzima adenilato ciclase la cual a partir de ATP sintetiza AMPc, el incremento de éste último activa la proteína quinasa A (PKA) la cual fosforila varias enzimas del metabolismo de carbohidratos, también migra al núcleo donde fosforila a la proteína que une al elemento que responde a AMPc (CREB) que se une a las regiones promotoras de algunos genes activando su expresión, tales como los de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK), glucosa-6-fosfatasa (G6Pasa), coactivador 1 α del receptor activado de proliferación de peroxisomas (PGC1 α) entre otros.

REGULACIÓN DEL METABOLISMO HEPÁTICO DE LA GLUCOSA POR EL GLUCAGÓN

El efecto hiperglicemiante del glucagón fue una de las primeras actividades biológicas establecidas para ésta hormona y la misma se debe al incremento en la glucogenólisis y en la neoglucogénesis⁸.

Como se discutió antes, la unión del glucagón a GcGR estimula a la proteína G α s la cual activa a la adenilato ciclase, que a partir de ATP produce AMPc y éste último activa a la PKA (Figura 4), la cual fosforila en restos de serina y treonina a varias enzimas, entre las que destacan: la glucógeno fosforilasa quinasa (GPK por sus siglas en inglés), la glucógeno sintasa (GS por sus siglas en inglés), la fosfofructoquinasa 2 (PFK2 por sus siglas en inglés) y la piruvato quinasa (PK por sus siglas en inglés)(Figura 5). La GPK a su vez fosforila y activa a la glucógeno fosforilasa (GP por sus siglas en inglés) la cual produce fosforolisis del glucógeno (glucogenólisis) dando glucosa-1-fosfato que se transforma en glucosa-6-fosfato (metabolito común con la neoglucogénesis), la cual es hidrolizado por la glucosa-6-fosfatasa (G-6-Pasa), enzima que cataliza la última reacción de la glucogenólisis y de la neoglucogénesis, dando glucosa que pasa a la sangre incrementando al glicemia. Por otro lado, la fosforilación de la glucógeno sintasa, la inhibe condicionando reducción de la glucogenogénesis (Figura 5)³⁴.

El glucagón estimula la neoglucogénesis e inhibe la glicolisis por la modulación de enzimas claves de ambas vías metabólicas. Mediante la vía de la PKA- CREB-CRTC2 se incrementa la expresión de los genes de la PEPCK y de la G-6-Pasa (Figura 4) por lo cual se incrementa de manera importante la neoglucogénesis. Por otro lado, la PKA fosforila a la PFK2, la cual en esta condición se inhibe su actividad de quinasa y se estimula su función de fructosa 2,6 bifosfatofosfatasa (FBPasa 2 por sus siglas en inglés), trayendo como consecuencia una disminución de los niveles de fructosa 2,6 bifosfato (F2,6P2), metabolito que es un modulador alostérico negativo de la fructosa 1,6 bifosfatofosfatasa 1 (FBPasa 1 por sus siglas en inglés) con lo cual se estimula la neglucogénesis (Figura 5). Por otro lado los bajos niveles de F2,6P2 disminuye la actividad de la fosfofructoquinasa 1 (PFK1 por sus siglas en inglés) trayendo como consecuencia inhibición de la glicolisis. Así mismo la PKA fosforila e inactiva a la piruvato quinasa hepática, lo que contribuye a la disminución de la glicolisis (Figura 5)³⁴. Es interesante mencionar que el ATP y las coenzimas reducidas ($NADH+H^+$) requeridos para permitir la neoglucogénesis son aportados por el incremento de la oxidación de los ácidos grasos promovida por el glucagón (ver más adelante).

En resumen, el incremento de la glucogenólisis y de la neoglucogénesis aunado a la disminución de la glucogenogénesis y de la glicolisis condiciona el efecto hiperglicemiante del glucagón.

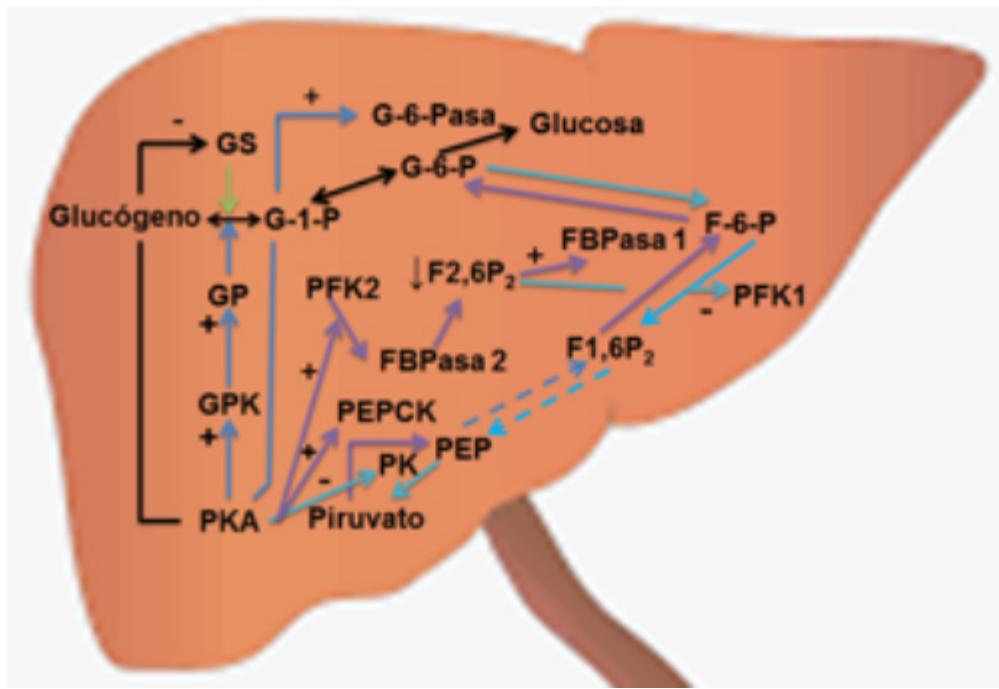


Figura 5. Regulación del metabolismo hepático de la glucosa por el glucagón. Como se destacó en la Figura 4, la unión del glucagón a GcGR condiciona la activación de la adenilato ciclase la cual sintetiza AMPc, que activa a la proteína quinasa A (PKA) y ésta última fosforila varias enzimas; una de ellas la glucógeno fosforilasa quinasa (GPK) se activa y fosforila a la glucógeno fosforilasa (GP) la cual produce la fosforólisis del glucógeno dando glucosa-1-fosfato (G-1-P) que se transforma en glucosa-6-fosfato (G-6-P) la cual es hidrolizada por la glucosa-6-fosfatasa (G-6-Pasa) para dar glucosa libre que pasa a la sangre; la actividad de la G-6-Pasa es estimulada por PKA sin fosforilación. Por otro lado la glucógeno sintasa (GS) es fosforilada por PKA inhibiendo su actividad. Como resultado de todo lo anterior se estimula la glucogenólisis y se inhibe la glucogenogénesis. PKA fosforila a la fosfofructoquinasa 2 (PFK2), la cual en esta condición se inhibe su actividad de quinasa y se estimula su función de fructosa 2,6 bifosfatofosfatasa (FBPasa 2), trayendo como consecuencia una disminución de los niveles de fructosa 2,6 bifosfato ($F2,6P^2$), metabolito que es un modulador alostérico negativo de la fructosa 1,6 bifosfatofosfatasa 1 (FBPasa 1) con lo cual se estimula la neoglucogénesis. Por otro lado los bajos niveles de $F2,6P^2$ disminuye la actividad de la fosfofructoquinasa 1 (PFK1) trayendo como consecuencia inhibición de la glicolisis. La actividad de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa es estimulada por PKA lo cual incrementa la neoglucogénesis. Así mismo la PKA fosforila e inactiva a la piruvato quinasa hepática (PK), lo que contribuye a la disminución de la glicolisis.

EFFECTOS DEL GLUCAGÓN SOBRE EL METABOLISMO LIPÍDICO

Al igual que en hígado, en el adipocito la unión del glucagón con GcGR condiciona la activación de la proteína G_a la cual estimula a la adenilato ciclase que sintetiza, a partir de ATP, AMPc y éste último activa a la PKA (Figura 4). El glucagón estimula la lipólisis mediante la

fosforilación y activación de la lipasa sensible a hormona por la PKA, la lipasa hidroliza a los triacilglicéridos dando ácidos grasos libres y glicerol que pasan a la sangre; además PKA fosforila a la perilipina, proteína que recubre las gotas de grasa del tejido adiposo, que en estas condiciones deja espacios libres a través de los cuales la lipasa sensible a hormona puede ejercer su acción (Figura 6A)³⁵. Por otro lado el glucagón reduce la lipogénesis por inhibición de la enzima acetilCoA carboxilasa, mediante fosforilación catalizada por PKA, con lo cual se reduce la producción de malonil-CoA, metabolito clave en la síntesis de ácidos grasos a nivel hepático (Figura 6B).

Así mismo el glucagón disminuye los niveles plasmáticos de colesterol y de lipoproteínas de baja densidad, probablemente por el incremento de la actividad del receptor de dicha lipoproteína a nivel hepático³⁶.

El glucagón incrementa la producción hepática de cuerpos cetónicos por varios mecanismos, en primer lugar, el aumento de la lipólisis a nivel del adipocito (Figura 6A) garantiza un suministro constante de ácidos grasos libres a hígado, requeridos para la cetogénesis. En segundo lugar, la disminución de los niveles de malonil-CoA, por fosforilación e inhibición de la acetil-CoA carboxilasa, permiten que la carnitina acil transferasa 1 aumente su actividad con lo cual se incrementa el transporte de ácidos grasos de cadena larga a la mitocondria, trayendo como consecuencia estimulación de la β -oxidación y potenciando la cetogénesis (Figura 6B)³⁷.

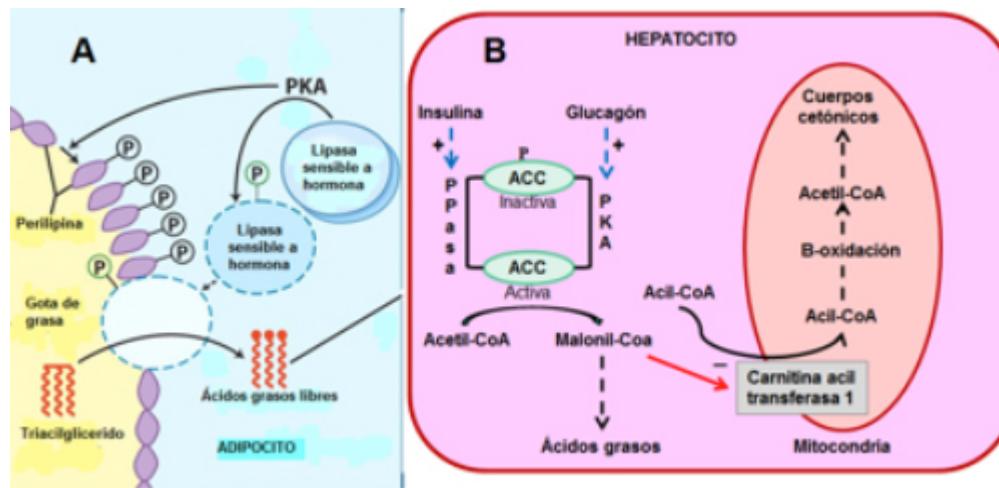


Figura 6. Efectos del glucagón sobre el metabolismo lipídico. Tanto en hígado como en el adipocito, la unión del glucagón a GcGR conduce a la activación de PKA (Figura 4). En el adipocito (A) PKA fosforila y activa a la lipasa sensible a hormona la cual hidroliza los triacilglicéridos dando ácidos libres y glicerol, pasando ambos a sangre. Además, PKA fosforila a la perilipina permitiendo el acceso de la lipasa sensible a hormona a la gota de grasa. En el hepatocito (B), PKA fosforila e inactiva a la acetil-CoA carboxilasa (ACC) por lo cual se reduce los niveles de malonil-CoA, inhibiéndose la síntesis de ácidos grasos, lipogénesis, además la disminución de malonilCoA aumenta la actividad de la carnitina acil transferasa 1, incrementándose la entrada de ácidos grasos de cadena larga a la mitocondria, donde son β oxidados potenciándose la cetogénesis.

GLUCACÓN Y METABOLISMO DE LOS AMINOÁCIDOS

Se ha reportado que la hiperglucagonemia condiciona una disminución de los niveles plasmáticos de aminoácidos y simultáneamente se observa un incremento de la síntesis de urea a partir de aminoácidos a nivel hepático, estos resultados sugieren que el glucagón estimula la captación de aminoácidos por hígado¹¹. Está bien establecido que el glucagón es un poderoso regulador de la ureogénesis hepática; en este contexto vale la pena destacar que el glucagón incrementa la transcripción y en consecuencia la síntesis de la enzima N-acetil glutamato sintasa, la cual produce N-acetil glutamato que es un cofactor esencial de la carbamil-fosfato sintetasa 1, enzima que cataliza la primera de las reacciones del ciclo de la urea, además varias de las enzimas de dicho ciclo son reguladas a nivel transcripcional por el glucagón³⁸. El esqueleto carbonado de los aminoácidos, luego de ser desaminados, es utilizado en la neoglucogénesis. Es interesante mencionar que en el músculo no existe GcGR³⁰ y que el incremento de la proteólisis muscular es consecuencia de la disminución de los niveles de insulina.

Por otro lado, si se bloquea la señalización del receptor del glucagón, GcGR, se presenta hiperplasia de las células α de los islotes pancreáticos, hiperglucagonemia e hiperaminoacidemia, en la actualidad se piensa que esta última es responsable del incremento en la secreción de glucagón y de los cambios en la masa de células α ³⁹.

OTROS EFECTOS DEL GLUCAGÓN

a.- *Ingesta de alimentos.* El glucagón disminuye la ingesta de alimentos produciendo una sensación de saciedad y promueve la pérdida de peso, lo cual es mediado por un eje hígado-nervio vago-hipotálamo⁹. Los niveles plasmáticos de glucagón se incrementan con la ingesta de alimentos por el aumento de los aminoácidos circulante (ver arriba).

b.- *Gasto energético.* El glucagón condiciona un incremento en la tasa metabólica por incremento en la actividad del tejido adiposo marrón lo cual contribuye a la pérdida de peso¹⁰.

c.- *Efecto cardiovascular.* El glucagón actúa sobre el corazón incrementando el gasto cardíaco por aumento de la fuerza y duración de la contracción¹³. Los efectos cronotrópicos e inotrópicos del glucagón son menos marcados pero más prolongados que los producidos por las catecolaminas y además tienen la ventaja de no presentar el riesgo de producir arritmias⁴⁰.

d.- *Autofagia.* El glucagón incrementa el número y tamaño de las vesículas autofágicas

hepáticas lo cual incrementa la lisis celular en condiciones de ayuno prolongado, hipoglicemia o diabetes¹⁵.

e.- *Factor de crecimiento de fibroblastos 21.* El hígado produce y secreta en condiciones de ayuno el factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF21 por sus siglas en inglés) y las evidencias indican que el glucagón estimula la expresión y secreción de dicho factor de crecimiento. Además, se piensa que los efectos del glucagón sobre la glicemia, lipólisis, la pérdida de peso y termogénesis son mediados, o al menos requieren la presencia de FGF21⁴¹

GLUCAGÓN Y DIABETES

En el presente las evidencias sugieren fuertemente que las manifestaciones de la diabetes no pueden ser explicadas solo por la deficiencia de insulina, y que una función anormal de las células α pancreáticas, y en consecuencia una hiperglucagonemia, sean un factor determinante de la magnitud de la hiperglicemia y de la hipercetonemia de la diabetes. Se ha demostrado, en humanos y en modelos animales, que en la diabetes mellitus tipo 1 (DMT1) no tratada, se presenta hiperglucagonemia⁴². La infusión de somatostatina, la cual inhibe la secreción de insulina y de glucagón, a humanos y animales con DMT1 condiciona la supresión de la hiperglucagonemia y una marcada reducción de la hiperglicemia y la hipercetonemia⁴³.

La administración de anticuerpos monoclonales u oligonucleótidos antisentido o antagonista de bajo peso molecular contra GcGR, a modelos animales de diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) condiciona reducción del fenotipo diabético. Ratones, que por manipulaciones genéticas, no expresan GcGR (ratones knock-out Gcgr-/-) son resistentes a desarrollar diabetes por el uso de estreptozotocina la cual destruye las células β pancreáticas⁴⁴. Sin embargo, los tratamientos anteriores fueron inefectivos cuando la diabetes que sufre el animal es muy severa, sugiriendo que se requiere la presencia de una cantidad límite de insulina para que el tratamiento antagonista del glucagón sea efectivo⁴⁴.

La pancreatectomía total condiciona diabetes lo cual constituyó durante un tiempo un fuerte argumento en contra del papel del glucagón en el desarrollo del fenotipo diabético. Sin embargo, se ha demostrado la presencia de células α en el fundus del estómago y el duodeno de humanos y animales⁴⁵ que pudieran producir glucagón condicionando hiperglicemia e hipercetonemia después de la pancreatectomía.

Las observaciones anteriores condujeron a Unger y Orci a postular la “hipótesis biohormonal” de la diabetes, según la cual tanto la disminución de la insulina como el aumento del glucagón son responsables de los síntomas y signos del diabético⁴⁶.

MODULACIÓN DE LA ACCIÓN DEL GLUCAGÓN EN EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES MELLITUS

Si el aumento de la secreción de glucagón es responsable de las alteraciones metabólicas de la diabetes mellitus, la modulación de dicha secreción y/o de sus efectos pudiera resultar beneficiosa en el tratamiento de la enfermedad.

En ensayos pre-clínicos usando modelos de diabetes se han ensayado varios tipos de antagonista del receptor del glucagón, GcGR, entre los cuales mencionaremos: anticuerpos poli y monoclonales, oligonucleótidos antisentido que inhiben la expresión del receptor, antagonistas de bajo peso molecular y el L-ARN (ARN formado por l-ribosa) aptamero que neutraliza el glucagón. Todos ellos mostraron reducir los niveles de glucosa sanguínea, mejorar la tolerancia a la glucosa en modelos de diabetes y reducir la expresión de las enzimas neoglucogénicas a nivel hepático⁴⁷. El éxito de los resultados anteriores indujo a realizar estudios clínicos, obteniéndose resultados similares, disminución de los niveles de glicemia en ayuno y postprandiales y mejoría en los valores de HbA1c. Sin embargo, el uso de ese tipo de compuestos que bloquean GcGR produce varios efectos colaterales indeseables tales como: incremento de las transaminasas hepáticas, incremento del colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (LDL colesterol) y aumento de los lípidos hepáticos⁴⁷. Como se mencionó antes, el bloqueo de la función de GcGR condiciona hiperglucagonemia e hiperplasia de las células α la cual pudiera malignizarse.

La insulina es un poderoso inhibidor de la secreción de glucagón (ver arriba) y en un sujeto normal la proximidad de las células α y β en los islotes pancreáticos condiciona que la insulina ejerza un efecto paracrino muy importante, además en los islotes las concentraciones de insulina son unas 100 veces superior a las alcanzadas en la circulación general por lo cual ésta última suprime la secreción de glucagón. En pacientes con DMT1 la mono terapia con insulina no permite alcanzar niveles adecuados de ésta hormona, para inhibir la secreción de glucagón, aunque si para satisfacer los requerimientos de los tejidos diferentes de los islotes pancreáticos, con lo cual se presenta hiperglucagonemia con la consecuente alteración metabólica⁴⁵. Las observaciones anteriores han inducido a buscar otros compuestos capaces de inhibir la secreción de glucagón.

La amilina es otro compuesto secretado normalmente por las células β pancreáticas junto con la insulina y se ha demostrado que inhibe la secreción de glucagón⁴⁸, reduce las fluctuaciones de la glicemia, disminuye los niveles de triacilgliceridos y baja la dosis de insulina requerida en DMT1. Se ha demostrado que la leptina es un poderoso inhibidor de la secreción de glucagón y que su administración a DMT1 reduce la volatilidad de la glicemia característica de esa enfermedad, normaliza los niveles de HbA1c y el patrón lipídico, suprime la hiperglucagonemia y reduce considerablemente los requerimientos de insulina^{23; 49}.

Aun cuando en las células α no existe el receptor para GLP1, éste por su actividad secretagoga de insulina inhibe la secreción de glucagón indirectamente (ver arriba). El GLP1 tiene una vida media muy corta por ser rápidamente hidrolizado por la enzima dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV por sus siglas en inglés); en la actualidad se usan en el tratamiento de la DMT2 inhibidores de dicha enzima (Ej: sitagliptina y vildagliptina) los cuales incrementan la vida media de GLP1

prolongando sus efectos biológicos. Así mismo los agonistas de GLP1 (Ej: exenatide y liraglutide) han sido usados en el tratamiento de DMT2 por estimular la secreción de insulina⁵⁰ y en consecuencia inhibir la producción de glucagón. Probablemente pudiera ser interesante usar este tipo de drogas en el tratamiento de la DMT1, con secreción remanente de insulina, por su posible efecto inhibidor de la secreción de glucagón⁵¹.

USO DEL GLUCAGÓN EN EL TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD

El efecto diabetógeno del glucagón habla en contra de su uso como mono terapia en el tratamiento de la obesidad en especial en diabéticos. Sin embargo, ya que el glucagón disminuye la ingesta de alimentos, incrementa la lipólisis y el gasto energético (ver arriba) ha inspirado el desarrollo de moléculas híbridas en las cuales el glucagón mantiene sus efectos beneficiosos sobre el peso corporal pero se disminuye grandemente la actividad hiperglicemiante.

Una de tales moléculas, el coagonista GLP1/glucagón, retiene la actividad anoréxica del GLP1 y la acción termogénica y lipolítica del glucagón con lo cual disminuye sustancialmente el peso corporal mientras que mejora el metabolismo de la glucosa, de los lípidos y del colesterol. La oxintomodulina, es producto del procesamiento del proglucagón (Figura 1), contiene los 29 aminoácidos del glucagón más 8 restos adicionales en el extremo carboxilo terminal. Este péptido es capaz de estimular GcGR y el receptor de GLP1 y cuando se inyecta disminuye la ingesta de alimentos y promueve la pérdida de peso. Otra molécula desarrollada, el triagonista GLP1/GIP/glucagón, mostro efectos similares que el coagonista GLP1/glucagón⁵².

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kimball C, Murlin J. (1923). Aqueous extracts of pancreas. III. Some precipitation reactions of insulin. *J Biol Chem* **58**: 337–348.
2. Sutherland EW, Cori CF, Haynes R, Olsen NS. (1949). Purification of the hyperglycemic-glycogenolytic factor from insulin and from gastric mucosa. *J. Biol. Chem.* **180**: 825–837.
3. Bromer WW, Sinn LG, Staub A, Behrens OK. (1957). The amino acid sequence of glucagon. *Diabetes* **6**: 234–238.
4. Unger RH, Eisentraut AM, Mc CM, Keller S, Lanz HC, Madison LL. (1959). Glucagon antibodies and their use for immunoassay for glucagon. *Proc Soc Exp Biol Med* **102**: 621–623.
5. Baum J, Simons BE, Jr, Unger RH, Madison LL. (1962). Localization of glucagon in the alpha cells in the pancreatic islet by immunofluorescent technics. *Diabetes*. **11**: 371–374.

6. Robison GA, Butcher RW, Sutherland EW. (1968). Cyclic AMP. *Annu Rev Biochem* **37**: 149â€“174.
7. Muller WA, Faloona GR, Unger RH. (1973). Hyperglucagonemia in diabetic ketoacidosis. Its prevalence and significance. *Am J Med* **54**: 52â€“57.
8. Cherrington AD, Williams PE, Shulman GI, Lacy WW. (1981). Differential time course of glucagonâ€™s effect on glycogenolysis and gluconeogenesis in the conscious dog. *Diabetes*. **30**: 180â€“187.
9. De Castro JM, Paullin SK, DeLugas GM. (1978). Insulin and glucagon as determinants of body weight set point and microregulation in rats. *J Comp Physiol Psychol* **92**: 571â€“579.
10. Doi K, Kuroshima A. (1982). Modified metabolic responsiveness to glucagon in cold-acclimated and heat-acclimated rats. *Life Sci* **30**: 785â€“791.
11. Hayashi Y, Seino Y. (2018). Regulation of amino acid metabolism and α -cell proliferation by glucagon. *J Diabetes Investig*. **9**: 464â€“472.
12. Paloyan E, Harper PV Jr. (1961). Glucagon as a regulating factor of plasma lipids. *Metabolism* **10**: 315â€“323.
13. Lucchesi BR. (1968). Cardiac actions of glucagon. *Circ Res* **22**: 777â€“787.
14. Campbell JE, Drucker DJ. (2015). Islet alpha cells and glucagonâ€“ critical regulators of energy homeostasis. *Nat Rev Endocrinol* **11**: 329â€“338.
15. Arstila AU, Trump BF. (1968). Studies on cellular autophagocytosis. The formation of autophagic vacuoles in the liver after glucagon administration. *Am J Pathol*. **53**: 687â€“733.
16. Cabrera O, Berman DM, Kenyon NS, Ricordi C, Berggren PO, Caicedo A. (2006). The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**: 2334â€“2339.
17. Schroeder WT, Lopez LC, Harper ME, Saunders GF (1984). Localization of the human glucagon gene (GCG) to chromosome segment 2q36â€“37 *Cytogenet. Cell Genet.* **38**: 76â€“79.
18. Sandoval DA, Dâ€™Alessio DA. (2015). Physiology of proglucagon peptides: role of glucagon and GLP-1 in health and disease. *Physiol Rev* **95**: 513â€“548.
19. Quesada I, Tuduri E, Ripoll C, Nadal A. (2008). Physiology of the pancreatic alpha-cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes. *J Endocrinol* **199**: 5â€“19.
20. González-Mujica F. (2017) Mecanismo de acciÃ³n de la insulina (RevisiÃ³n). *Vitae Octubre-Diciembre 2017 NÂº 72.* Disponible en http://vitae.ucv.ve/?module=articulo_pdf&n=5653&rv=137.
21. Franklin I, Gromada J, Cjinovci A, Theander S, Wollheim CB. (2005). Beta-cell secretory products activate alpha-cell ATP-dependent potassium channels to inhibit glucagon release. *Diabetes* **54**: 1808â€“1815.
22. Yoshimoto Y, Fukuyama Y, Horio Y, Inanobe A, Gotoh M, Kurachi Y (1999). Somatostatin induces hyperpolarization in pancreatic islet alpha cells by activating a G protein-gated K⁺ channel. *FEBS Lett* **444**: 265â€“269.
23. Goldenberg D, Santos JL, Hodgson MI, Cortes VA. (2014). Nuevas proyecciones fisiolÃ³gicas, patolÃ³gicas y terapÃ©uticas de la leptina. *Rev. mÃ©d. Chile*. **142**: 738-747.
24. Taborsky GJ, Mundinger TO. (2012). Minireview: the role of the autonomic nervous system in mediating the glucagon response to hypoglycemia. *Endocrinology* **153**:

- 1055–1062.
25. Gerich JE, Langlois M, Schneider V, Karam JH, Noacco C. (1974). Effects of alterations of plasma free fatty acid levels on pancreatic glucagon secretion in man. *J Clin Invest* **53**: 1284–1289.
26. Bollheimer LC, Landauer HC, Troll S, Schweimer J, Wrede CE, Scholmerich J, Buettner R. (2004). Stimulatory short-term effects of free fatty acids on glucagon secretion at low to normal glucose concentrations. *Metabolism* **53**: 1443–1448.
27. Ohneda A, Parada E, Eisentraut AM, Unger RH. (1968). Characterization of response of circulating glucagon to intraduodenal and intravenous administration of amino acids. *J Clin Invest* **47**: 2305–2322.
28. Jones BJ, Tan T, Bloom SR. (2012). Minireview: Glucagon in Stress and Energy Homeostasis *Endocrinology* **153**: 1049–1054.
29. Gerich JE. (1981). Physiology of glucagon. *Int Rev Physiol* **24**: 243–275.
30. Svoboda M, Tastenoy M, Vertongen P, Robberecht P. (1994). Relative quantitative analysis of glucagon receptor mRNA in rat tissues. *Mol Cell Endocrinol* **105**: 131–137.
31. Kieffer TJ, Heller RS, Unson CG, Weir GC, Habener JF. (1996). Distribution of glucagon receptors on hormone-specific endocrine cells of rat pancreatic islets. *Endocrinology* **137**: 5119–5125.
32. Jelinek LJ, Lok S, Rosenberg GB, Smith RA, Grant FJ, Biggs S, Bensch PA, Kuijper JL, Sheppard PO, Sprecher CA. (1993). Expression cloning and signaling properties of the rat glucagon receptor. *Science* **259**: 1614–1616.
33. Altarejos JY, Montminy M. (2011). CREB and the CRTC co-activators: sensors for hormonal and metabolic signals. *Nat Rev Mol Cell Biol* **12**: 141–151.
34. Jiang G, Zhang BB. (2003). Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **284**: E671–E678.
35. Perea A, Clemente F, Martinell J, Villanueva-Penacarrillo ML, Valverde I. (1995). Physiological effect of glucagon in human isolated adipocytes. *Horm Metab Res* **27**: 372–375.
36. Brown NF, Salter AM, Fears R, Brindley DN. (1989). Glucagon, cyclic AMP and adrenaline stimulate the degradation of low-density lipoprotein by cultured rat hepatocytes. *Biochem J* **262**: 425–429.
37. Foster DW, McGarry JD. (1982). The regulation of ketogenesis. *Ciba Found Symp* **87**: 120–131.
38. Takiguchi M, Mori M. (1995). Transcriptional regulation of genes for ornithine cycle enzymes. *Biochem J* **312**: 649–659.
39. Solloway MJ, Madjidi A, Gu C, Eastham-Anderson J, Clarke HJ, Kljavin N, Zavala-Solorio J, Kates L, Friedman B, Brauer M, Wang J, Fiehn O, Kolumam G, Stern H, Lowe JB, Peterson AS, Allan BB. (2015). Glucagon couples hepatic amino acid catabolism to mTOR-dependent regulation of α -cell mass. *Cell Rep* **12**: 495–510.
40. Listed NA. (1969). Glucagon and the heart. *Br Med J* **4**: 635.
41. MÃ¼ller TD, Finan B, Clemmensen C, DiMarchi RD, TschÃ¶p MH. (2017). The new biology and pharmacology of glucagon. *Physiol Rev* **97**: 721–766.
42. Muller WA, Faloona GR, Unger RH. (1973). Hyperglucagonemia in diabetic ketoacidosis. Its prevalence and significance. *Am J Med* **54**: 52–57.
43. Raskin P, Unger RH. (1978). Hyperglucagonemia and its suppression. Importance in the

- metabolic control of diabetes. *N Engl J Med.* **299**: 433–436.
44. Holst JJ, Holland W, Gromada J, Lee Y, Unger RH, Yan H, Sloop KW, Kieffer TJ, Damond N, Herrera PL. (2017). Insulin and Glucagon: Partners for Life. *Endocrinology.* **158**: 696–701.
45. Unger RH, Cherrington D. (2012). Glucagonocentric restructuring of diabetes: a pathophysiologic and therapeutic makeover. *J Clin Invest.* **122**: 4–12.
46. Unger RH, Orci L. (1981). Glucagon and the α cell-physiology and pathophysiology-(first of two parts). *N Engl J Med.* **304**: 1518–1524.
47. Scott RV, Bloom SR. (2018). Problem or solution: The strange story of glucagon. *Peptides.* **100**: 36–41.
48. Buse JB, Weyer C, Maggs DG. (2002). Amylin replacement with pramlintide in type 1 and type 2 diabetes: a physiological approach to overcome barriers with insulin therapy. *Clin Diabetes.* **20**: 137–144.
49. Wang MY, Chen L, Clark GO, Lee Y, Stevens RD, Ilkayeva OR, Wenner BR, Bain JR, Charron MJ, Newgard CB, Unger RH. (2010). Leptin therapy in insulin deficient type I diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA.* **107**: 4813–4819.
50. González-Mujica F. (2016) Drogas antidiabéticas diferentes de la insulina. Mecanismos de acción. *Vitae, Abril-Junio* N° 66. Disponible en: <http://vitae.ucv.ve/?module=articulo&rv=124&n=5316>.
51. Lima-Martínez MM, Betancourt L, Bermúdez A. (2011). Glucagón: ¿un simple espectador o un jugador clave en la fisiopatología de la diabetes? *Av Diabetol.* **27**: 160--167.
52. Tschöp MH, Finan B, Clemmensen C, Gelfanov V, Perez-Tilve D, Muller TD, DiMarchi RD. (2016). Unimolecular polypharmacy for treatment of diabetes and obesity. *Cell Metab.* **24**: 51–62.