

# Impacte Metabòlic de l'Activació de la Glicogen Sintasa Hepàtica

Susana Ros Domínguez

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tesisenred.net](http://www.tesisenred.net)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

# **Impacte metabòlic de l'activació de la glicogen sintasa hepàtica**

SUSANA ROS DOMÍNGUEZ  
Barcelona, Juny del 2009

---

## **CONCLUSIONS**

1. La mutació de la serina 7, o lloc de fosforilació 2, a alanina en la seqüència de la LGS, produeix un increment substancial de l'activitat de l'enzim, quan es sobreexpressa en hepatòcits tractats amb medi sense glucosa. La mutació dels altres sis residus de fosforilació produeix un efecte molt menor en l'activitat de l'enzim.
2. La mutació de la serina 11, o lloc de fosforilació 2a, a alanina no impedeix la fosforilació de la serina 7, o lloc de fosforilació 2, de la LGS, quan es sobreexpressa la LGS 2a en hepatòcits tractats amb medi sense glucosa. Per tant, no és necessària una fosforilació prèvia en el lloc 2a per a que es produeixi fosforilació en el lloc 2.
3. La fosforilació dels residus del C-terminal de LGS no ocorre de manera jeràrquica. La mutació dels llocs de fosforilació 5, 4 o 3c no impedeix la fosforilació del lloc 3a, quan es sobreexpressen aquestes formes de LGS en hepatòcits tractats amb medi sense glucosa. Només en el cas en que no es permet la fosforilació del lloc 3b s'impedeix parcialment la fosforilació del lloc 3a.
4. El control de l'activitat de LGS per fosforilació recau bàsicament en el lloc 2. Els mutants combinats d'aquest lloc més una mutació en algun dels altres sis llocs de fosforilació produeix enzims amb una relació d'activitats GS semblant a la del mutant del lloc 2.
5. La forma de LGS mutada en el lloc de fosforilació 2, o les LGS mutades en aquest lloc i un segon lloc de fosforilació, poden sintetitzar glicogen a partir de la glucosa del medi quan són sobreexpressades en les cèl·lules FTO2B, degut a la seva activació constitutiva, tot i l'absència de la GK

6. Els hepatòcits que sobreexpressen la LGS mutada en el lloc de fosforilació 2, o les LGS mutades en aquest lloc i un segon lloc de fosforilació, són capaços d'acumular glicogen, a partir dels aminoàcids presents en el medi de cultiu en absència de glucosa.
7. La translocació a la perifèria cel·lular de la LGS no pot ésser dissociada de la síntesi de glicogen. Per tant, si no es produeix síntesi de glicogen, l'activació covalent de la LGS no condueix a la translocació de l'enzim.
8. La sobreexpressió hepàtica en rata sana d'una forma de LGS mutada en els llocs de fosforilació 2 i 3b, mutacions serina per alanina, produeix un increment significatiu de la deposició de glicogen en fetge, una baixada moderada en la glicèmia i una millor tolerància a la glucosa dels animals, sense alterar cap paràmetre metabòlic clau. Un increment semblant en la quantitat de l'enzim LGS de forma salvatge no resulta efectiva en la millora de l'homeòstasi de glucosa *in vivo*, per inactivació.
9. El glicogen emmagatzemat en el fetge de les rates sanes que sobreexpressen la LGS 2+3b es mobilitza en resposta a un dejuni de 18 hores.
10. La sobreexpressió de la LGS, tant de la forma salvatge com de la modificada en els llocs 2 i 3b, no causa cap efecte sobre l'expressió de la GP en el fetge de rates sanes. Així doncs l'expressió de la LGS i la GP hepàtica no es troben controlades de manera recíproca en fetge, a diferència de la MGS i la GP muscular.
11. La sobreexpressió hepàtica de la LGS 2+3b en rata STZ, rata diabètica tipus I, restaura la capacitat d'acumulació de glicogen en el fetge, el que condueix a la disminució en la glicèmia, tot i la poca insulina circulant i la baixa expressió i activitat de la GK. Novament, un increment similar en la quantitat de l'enzim LGS de forma salvatge en el fetge de les rates STZ, no resulta efectiva en la millora de l'homeòstasi de glucosa *in vivo*, doncs el sistema la manté inactiva.

- 12.** El glicogen acumulat en el fetge de les rates STZ que sobreexpressen la LGS 2+3b es mobilitza en resposta a un dejuni de 18 hores, això suggereix que aquesta mobilització podria permetre contrarestar la baixada dels nivells de glucosa en sang en períodes d'hipoglucèmia.
- 13.** La sobreexpressió hepàtica de la LGS 2+3b resulta en la disminució en la ingesta de les rates STZ, per una via independent de leptina. Així doncs es suggereix que un increment moderat en la quantitat de glicogen hepàtic generaria signes que regularien la ingesta.
- 14.** La sobreexpressió hepàtica de la LGS 2+3b en rates STZ produeix una disminució en l'expressió de la subunitat reguladora de la PP1 PTG, però no de la  $G_L$ , el que contribueix a l'augment en la forma fosforilada de la GP en fetge.
- 15.** L'expressió dels enzims gluconeogènics FBPasa, G6Pasa i PEPCK es troba disminuïda en el fetge de les rates STZ que sobreexpressen la LGS 2+3b. La quantitat de proteïna PEPCK es troba també disminuïda. Així doncs, a part de l'augment en la síntesi de glicogen i la reducció de la ingesta, la glicèmia de les rates STZ que sobreexpressen la LGS 2+3b podria ésser més baixa degut a una possible reducció de la producció de glucosa en el fetge.
- 16.** La disminució en la quantitat d'ARNm dels enzims gluconeogènics per la sobreexpressió de la LGS 2+3b en el fetge de les rates STZ es duu a terme per un mecanisme independent de l'activació de la quinasa PKB/Akt.
- 17.** No es detecten canvis en l'expressió gènica del receptor nuclear HNF-4 $\alpha$  o dels factors de transcripció ChREBP, HNF-3 $\beta$ , FOXO1 i SREBP-1 ni del coactivador PGC-1 $\alpha$ , per la sobreexpressió de la LGS 2+3b en fetge de rates STZ. Aquests són els principals elements de regulació de la transcripció de la PTG, la PEPCK, la G6Pasa i la FBPasa.

- 18.** L'expressió del receptor nuclear orfe SHP es troba augmentada en el fetge de les rates STZ que sobreexpressen la LGS 2+3b en fetge. L'SHP reprimeix l'activitat transcripcional dels principals elements que regulen l'expressió de la PTG, la PEPCK, la G6Pasa i la FBPasa.
- 19.** En el fetge de les rates STZ que sobreexpressaven la LGS 2+3b la quantitat d'ARNm del factor de transcripció C/EBP $\beta$  es troba disminuïda. Aquest factor juga un paper essencial en la regulació de la transcripció de la PEPCK i la G6Pasa, per tant aquesta reducció probablement contribueix a la disminució en la quantitat d'ARNm de PEPCK i G6Pasa observada en aquests animals.
- 20.** La sobreexpressió hepàtica de la LGS 2+3b en rates STZ condueix a l'activació de la quinasa ERK 1/2 en fetge. L'activació de la quinasa ERK1/2 a la seva vegada resulta en la inhibició de la transcripció de la PEPCK i la G6Pasa, per un mecanisme encara desconegut.
- 21.** La sobreexpressió de la LGS 2+3b en hepatòcits tractats amb dexametasona i Bt<sub>2</sub>cAMP, condueix a la disminució en l'expressió dels gens de la PEPCK i la G6Pasa, així com a la fosforilació d'ERK 1/2, i a un augment de l'expressió del receptor nuclear orfe SHP. No obstant, això no ocorre si es sobreexpressa la mateixa quantitat de la forma salvatge de l'enzim, així com d'una forma catalíticament inactiva o d'una catalíticament inactiva i modificada en els llocs 2 i 3b. Per tant, l'activitat de la LGS o el que és el mateix la síntesi de glicogen, i no la proteïna LGS en sí, és clau per aquesta repressió de la transcripció dels enzims gluconeogènics es doni a terme.