

An. R. Acad. Nac. Farm., 2008, 74 (4):

Revisión

Resistencia a insulina en el músculo esquelético: conexión con la obesidad

Recibido el 28 de mayo de 2008

IRIA NIETO-VÁZQUEZ, SONIA FERNÁNDEZ-VELEDO, LUCÍA
GARCÍA-GUERRA, ROCÍO VILA-BEDMAR, Y MARGARITA
LORENZO*

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Facultad de
Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.*

RESUMEN

Entre las complicaciones asociadas a la Obesidad, tiene una especial relevancia el desarrollo de resistencia a la insulina, siendo el primer eslabón de una amplia patología conocida como diabetes tipo 2. La Obesidad se considera como un estado crónico de inflamación de baja intensidad, como indican los niveles circulantes elevados de moléculas proinflamatorias. Se ha propuesto al TNF α como el nexo de unión entre

* Correspondencia:

Dra. Margarita Lorenzo.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II. Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense de Madrid.

Plaza de Ramón y Cajal, s/n. 28040. Madrid, Spain.

Tel.: 34-913941858. Fax: 34-913941779.

e-mail: mlorenzo@farm.ucm.es

Abreviaturas: AMPK, proteína quinasa dependiente de AMP; AS160, sustrato de AKT de 160 kDa; ERK, quinasas reguladas por señales extracelulares; IGF, factor de crecimiento insulínico; IKK, quinasa del inhibidor de NF-kB; IL, interleuquina; IR, receptor de insulina; IRS, sustrato del receptor de insulina; JNK, c-Jun N-terminal quinasa; LXR, liver X receptor; MAPK, proteínas quinasas activadas por mitógenos; PI3K, fosfatidilinositol 3-quinasa; PTP, proteína tirosina fosfatasa; PPAR, receptor activado por proliferadores peroximales; TNF, factor de necrosis tumoral; TZD, tiazolidindionas; UCP, proteínas desacoplantes.

adiposidad y desarrollo de resistencia a insulina ya que la mayoría de los pacientes con diabetes tipo 2 son obesos y tienen aumentada la expresión de TNF α en sus adipocitos, y los animales obesos delecionados para la función del TNF α o su receptor no desarrollan resistencia a insulina. Las citocinas proinflamatorias producidas por los adipocitos y/o macrófagos activan quinasas de estrés, proinflamatorias y factores de transcripción que actúan sobre los tejidos periféricos (entre ellos el músculo y el propio tejido adiposo) produciendo resistencia a la acción de la insulina, que es un defecto en la señalización a varios niveles. En concreto, el TNF α activa la quinasa p38MAPK que fosforila en residuos de serina a los IRSs, bloqueando su fosforilación en tirosina en respuesta a la insulina, tanto en adipocitos marrones como en miocitos. Muy recientemente hemos observado que la fosfatasa PTP1B también está implicada en la resistencia a insulina por TNF α en ambos modelos. En la clínica se está utilizando actualmente el tratamiento con tiazolidindionas en pacientes con diabetes tipo 2. Otros agonistas de receptores nucleares empiezan a aparecer en la bibliografía como potenciales sensibilizadores a acción de la insulina, entre ellos el LXR, que puede antagonizar la señalización proinflamatoria en los propios adipocitos y/o en el músculo.

Palabras clave: Transporte de glucosa.- LXR.- PTP1B.- TNF α .- IL-6.

ABSTRACT

Obesity-Associated Insulin resistance in skeletal muscle

Insulin resistance is an important contributor to the pathogenesis of type 2 diabetes and obesity is a risk factor for its development, due in part to the fact that adipose tissue secretes proteins called adipokines that may influence insulin sensitivity. Among these molecules, TNF α has been proposed as a link between obesity and insulin resistance because TNF α is overexpressed in adipose tissues of obese animals and humans, and obese mice lacking either TNF α or its receptor show protection for developing insulin resistance. The direct exposure to TNF α induced a state of insulin resistance on glucose uptake in myocytes and brown adipocytes, due to the activation of pro-inflammatory pathways that impair insulin-signaling at the level of the IRS proteins. In this regard the residue Ser307 in IRS-1 has been identified as a site for TNF α -inhibitory effects in myotubes, with being p38MAPK and IKK involved in the phosphorylation of this residue. Conversely, serine phosphorylation of IRS-2 mediated by TNF α activation of MAPKs was the mechanism found in brown adipocytes. The phosphatase PTP1B acts as a physiological negative regulator of insulin signaling by dephosphorylating the phosphotyrosine residues of the insulin receptor and IRS-1, and PTP1B expression is increased in muscle and white adipose tissue of obese and diabetic humans and rodents. Moreover, up-regulation of PTP1B expression has recently been found in cells treated with TNF α . Accordingly, myocytes and primary brown adipocytes

deficient on PTP1B are protected against insulin resistance by this cytokine. Furthermore, down-regulation of PTP1B activity is also possible by the use of pharmacological agonists of nuclear receptors that restored insulin sensitivity in the presence of TNF α . In conclusion, the lack of PTP1B in muscle and brown adipocytes increase insulin sensitivity and glucose uptake and could confer protection against insulin resistance induced by adipokines.

Key words: Glucose uptake.- LXR.- PTP1B.- TNF α .- IL-6.

INTRODUCCIÓN

La diabetes, que constituye uno de los principales problemas de salud pública, se define como un estado en el que el metabolismo de hidratos de carbono y lípidos no está regulado de manera adecuada por la insulina, provocando un aumento de los niveles plasmáticos de glucosa, tanto en situaciones de ayuno como tras la ingesta de nutrientes, y que conduce al desarrollo de patologías asociadas si no se inicia un tratamiento adecuado. En concreto, la diabetes tipo 2 o insulino-independiente, afecta aproximadamente al 90% de los pacientes diabéticos y es el resultado de graves defectos tanto en la secreción de la insulina por el páncreas como en la acción de la hormona en el hígado y en los tejidos adiposo y muscular. Aunque aún no se conoce con exactitud la etiología de este desorden metabólico, una combinación de factores genéticos y ambientales, tales como la edad, una dieta rica en grasa o la inactividad física, estarían implicados en la progresión del mismo. El músculo esquelético es el tejido responsable de la utilización de la mayor tasa de glucosa en respuesta a insulina, y por tanto, es el órgano en el que se detectan los primeros defectos relacionados con la resistencia a dicha hormona (1).

La resistencia a la acción de la insulina, definida como un estado de respuesta a concentraciones normales circulantes de insulina inferior a lo normal, es la característica principal de la diabetes tipo 2 e implica alteraciones en el transporte, metabolismo o almacenamiento de la glucosa. En concreto, en el músculo esquelético de pacientes que desarrollan resistencia a insulina se ha observado, en los primeros

estadios, una reducción en la expresión de GLUT4 y en el transporte de glucosa y, seguidamente, una disminución en el metabolismo no oxidativo de la glucosa y en la síntesis de glucógeno. Estos fenómenos se agravan y desembocan en un estado severo de hiperglucemia, responsable de diversas complicaciones en otros tejidos (2). Varios estudios epidemiológicos en diferentes grupos de la población, indican que la diabetes tipo 2 progresa a lo largo de un continuo empeoramiento en la respuesta a insulina, comenzando por una resistencia periférica a la acción de la misma y terminando con la pérdida de secreción por parte de las células β del páncreas (Figura 1).

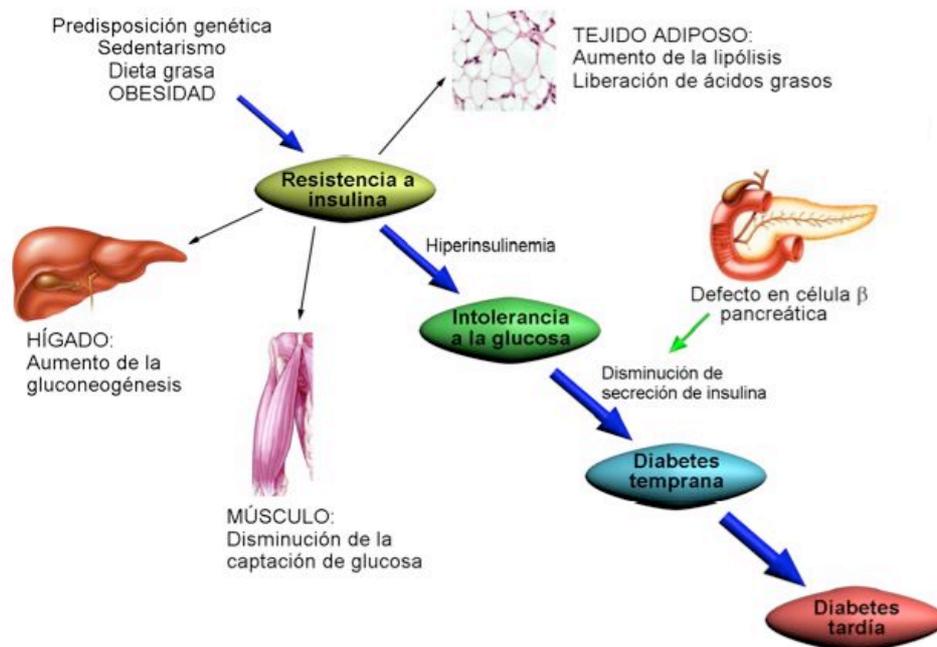


FIGURA 1.- *Etapas del desarrollo de resistencia a insulina y diabetes tipo 2.*

En la mayoría de los pacientes, la resistencia a insulina puede ser detectada mucho antes de que se produzca intolerancia a la glucosa, puesto que una de las primeras manifestaciones es el fallo en la captación de glucosa por parte del músculo esquelético. Asimismo, la aparición en el tejido adiposo de resistencia a los efectos antilipolíticos de la insulina, provoca un incremento en la lipólisis y la liberación de ácidos grasos que merman la capacidad de la hormona para reprimir la producción de glucosa en el hígado, aunque aún se permite la síntesis de ácidos grasos. Esta desregulación del metabolismo de hidratos de carbono y lípidos contribuye a acelerar la progresión de la resistencia a la insulina. En los primeros estadios, las células β pancreáticas responden con un incremento en la secreción de la hormona, generando un estado de hiperinsulinemia compensada, lo que contribuye a largo plazo a agravar este desorden metabólico. El exceso prolongado de insulina circulante hace que las células β no puedan mantener el mecanismo de compensación y fallan a la hora de responder apropiadamente a la glucosa, lo cual desemboca en el desarrollo de intolerancia al azúcar. Así, aproximadamente un 5-10% de los pacientes intolerantes a la glucosa en menos de un año pasan a ser diabéticos, continuando con un agravamiento progresivo de la resistencia a insulina. Las células adiposas generan más ácidos grasos, el hígado produce glucosa de manera incontrolada y las células β pancreáticas fallan totalmente, llegando a las últimas etapas de la enfermedad donde se requieren ya altas dosis de insulina exógena. La falta de respuesta a la acción de la insulina y la hiperinsulinemia, incluso en ausencia de diabetes, conducen a una gran variedad de anormalidades, incluyendo un aumento de triglicéridos, una disminución de los niveles de HDL, un aumento de secreción de VLDL, desórdenes en la coagulación, aumento de la resistencia vascular, cambios en los niveles de hormonas tiroideas, atenuación del flujo de sangre periférico y ganancia de peso. Por todo ello, la resistencia a la insulina se asocia con la obesidad, hipertensión, dislipidemia y aterosclerosis. A este conjunto de síntomas se le denomina síndrome X o síndrome de resistencia a insulina (2).

MECANISMOS MOLECULARES DE LA RESISTENCIA A INSULINA EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO

Durante muchos años varios grupos han estudiado las posibles alteraciones de los componentes de la cascada de señalización de la insulina en situaciones de resistencia a la misma, en un esfuerzo por definir la etiología y los mecanismos moleculares de esta patología. La estimulación con insulina induce la autofosforilación y consecuente activación de su propio receptor localizado en la membrana, y por tanto, éste es el primer fenómeno de la ruta susceptible de modificación. De hecho, en el músculo esquelético de sujetos obesos con resistencia a insulina o de pacientes diabéticos se ha visto una disminución en la actividad tirosina quinasa del receptor de insulina, en algunos casos consecuencia de un aumento en la cantidad de serinas fosforiladas (1). Recientemente, se ha sugerido que la fosforilación en serina y treonina del receptor de insulina puede estar mediada por alguna isoforma de PKC (3). Por otra parte, se ha observado una disminución en el número de receptores en la superficie celular en estas situaciones, debido a una mayor degradación de los mismos, o bien, a un aumento en el contenido de receptores híbridos de insulina/IGF-I en los tejidos periféricos diana para la acción de la insulina (1). Sin embargo, se ha propuesto que defectos en elementos de la ruta situados por debajo del receptor son los que están directamente implicados en el desarrollo de resistencia a insulina en el músculo esquelético, ya que aunque han observado una reducción en el transporte de glucosa en este tejido en pacientes con diabetes tipo 2, no han detectado diferencias en la fosforilación en tirosina de la cadena β del receptor de insulina respecto a los sujetos sanos (4).

Los sustratos del receptor de insulina que principalmente se expresan en el músculo esquelético son el IRS-1 y el IRS-2. Diferentes estudios *in vivo* e *in vitro* en músculo de pacientes diabéticos han demostrado que la fosforilación en tirosina estimulada por insulina está afectada en ambos sustratos, siendo el efecto sobre el IRS-1 más acentuado. Sin embargo, este fenómeno no ha sido asociado con alteraciones en la expresión de IRS-1, sino con el aumento en la fosforilación en residuos serina/treonina, lo cual disminuye la habilidad del receptor de insulina para activar al IRS-1 en respuesta a la hormona. Además, en el músculo, el IRS-2 no parece ser capaz de compensar los defectos en la señalización mediada por el IRS-1 en situaciones de

resistencia a insulina (4). Resultados muy similares también han sido descritos en biopsias de músculo esquelético de mujeres que padecen el síndrome poliquístico ovárico, diabetes gestacional y en individuos con cáncer de páncreas. Estas observaciones contrastan con las obtenidas del tejido adiposo de pacientes obesos y diabéticos, donde la disminución en la cantidad de residuos tirosina fosforilados del IRS-1 en respuesta a insulina está asociada con una menor cantidad de proteína total de dicho sustrato, y donde aumenta la señalización IRS-2/PI3-K al encontrarse afectada la del IRS-1 (5). Por tanto, aunque ambos son tejidos periféricos diana para la acción de la insulina, existen diferencias importantes en los mecanismos moleculares que participan en el desarrollo de resistencia a la hormona y diabetes tipo 2.

En cuanto a la fosforilación en serina del IRS-1 en el músculo, se han identificado varios residuos, por ejemplo la serina 307 en roedores (serina 312 en humanos), que pueden ser fosforilados por diferentes quinasas, y así, se impide la interacción del dominio catalítico del receptor de insulina con el dominio PTB del IRS-1 (1). En células musculares en cultivo de sujetos con diabetes tipo 2 se ha visto un incremento en la fosforilación de la serina 636 en estado basal, lo cual perjudica la acción de la insulina (4). Además, factores como el $TNF\alpha$, relacionado con el desarrollo de resistencia a insulina en diferentes tejidos, o la infusión de ácidos grasos libres directamente en el músculo inducen la fosforilación de IRS-1 en residuos serina, de manera que se convierten en inhibidores de la actividad tirosina quinasa del receptor de insulina, disminuyen la actividad de la PI3-K y el transporte de glucosa en presencia de la hormona en este tejido. En estos casos se ha implicado a distintas quinasas como JNK-1, quinasas activadas por la vía MEK, IKK β , PKC ζ y MAPK (6). No obstante, el desarrollo de resistencia a insulina por $TNF\alpha$ en el músculo esquelético se detalla más adelante.

Por debajo de estos sustratos se ha implicado a las proteínas AKT y PKCs atípicas en la traslocación de GLUT4 a la membrana y en el transporte de glucosa inducidos por la insulina. El estudio de la relación entre AKT y el desarrollo de resistencia a dicha hormona ha sido complicado debido a la existencia de varias isoformas de esta quinasa, y por tanto, a los posibles mecanismos de compensación. En los primeros trabajos al respecto se había observado que, tras la administración de

dosis fisiológicas de insulina, la actividad de AKT1 en el músculo esquelético era muy similar en pacientes diabéticos tipo 2, con o sin obesidad, y pacientes sanos. Además, la estimulación de AKT2 y AKT3 en respuesta a la hormona era normal en el músculo de sujetos obesos con diabetes tipo 2, a pesar de tener reducida la actividad de la PI3-K asociada a IRS-1 e IRS-2. Sin embargo, en los estudios anteriores la cuestión de la especificidad de las isoformas de AKT no fue resuelta, ya que las técnicas empleadas no permitían discriminar entre AKT1 y AKT2. En un trabajo más reciente, realizado en pacientes con obesidad mórbida y resistencia a insulina, se ha demostrado que la hormona únicamente es capaz de activar a AKT1 en el músculo de estos sujetos, sugiriendo que tanto AKT2 como AKT3 son las isoformas responsables del transporte de glucosa y del desarrollo de esta patología, al menos en este tejido (7).

En cuanto al papel de las PKCs atípicas, se han conocido evidencias recientes que sugieren que la activación de PKC ζ/λ por insulina está disminuida en el músculo esquelético de pacientes obesos y/o diabéticos, fenómeno que es parcialmente explicado por una reducción en la expresión de estas quinasas. Algunos autores han defendido la hipótesis de que la primera lesión que aparece en este tejido, durante el desarrollo de diabetes tipo 2, es a nivel de las PKCs atípicas. De hecho, en los miotubos de sujetos obesos con intolerancia a la glucosa se ha visto que la acción de la insulina sobre la activación de PKC ζ/λ está significativamente afectada (8). Por tanto, se ha estipulado la posibilidad de que algunos factores genéticos puedan contribuir a esta alteración sobre las PKCs, aunque aún no se ha publicado ninguna mutación de estas quinasas asociada con la resistencia a insulina. También se han visto incrementos significativos en la cantidad total de PKC θ y PKC ϵ en el músculo esquelético de roedores insulino-resistentes, consecuencia de una dieta rica en grasa, hecho que se ha relacionado directamente con el contenido muscular de triglicéridos y diglicéridos (3).

Mientras que las alteraciones en la señalización de la insulina a través de la ruta IRSs/PI3-K/AKT/PKCs parecen ser características en el músculo esquelético de diabéticos tipo 2, los defectos en la cascada de las quinasas MAP son menos conocidos. En este sentido, se ha observado que la activación de p42/p44MAPK por insulina no se encuentra afectada, y en estado basal, la fosforilación de estas quinasas no varía, o incluso

aumenta, en diferentes modelos de células musculares obtenidas de sujetos diabéticos (4, 7). Por otro lado, se ha publicado que la fosforilación basal de la p38MAPK es mayor en el músculo esquelético aislado de pacientes con diabetes tipo 2, y que esta quinasa no se activa en respuesta a insulina en esa situación. Además, no se han detectado variaciones significativas en la cantidad total de proteína de p42/p44MAPK ni de p38MAPK en ninguno de los trabajos anteriores. También se ha descrito un papel negativo de la JNK sobre la señalización de la insulina, ya que esta ruta media la fosforilación en residuos serina de IRS-1 por $TNF\alpha$, disminuyendo su fosforilación en tirosina e inhibiendo la señalización de la hormona, fenómeno que no se observa en ratones carentes del gen *jnk1* (9) (Tabla I). Además, la inhibición de JNK disminuye los niveles de glucosa en sangre e incrementa la insulina plasmática (10), y protege a las células β pancreáticas de la apoptosis pudiendo aumentar la secreción de insulina en situaciones de hiperglucemia. No obstante, son necesarios más estudios para clarificar la implicación de estas quinasas en el desarrollo de resistencia a insulina.

Otro mecanismo implicado en la reducción del transporte de glucosa y en los defectos en la señalización de la insulina en la diabetes tipo 2 es el aumento en el contenido de PTPs. Se ha visto que la expresión y/o actividad de al menos tres PTPs se encuentra aumentada en músculo y tejido adiposo de individuos y ratones obesos con resistencia a insulina: PTP1B, LAR y SH-PTP2 (11). De hecho, en el caso de la PTP1B, ratones carentes de este gen presentan mayor sensibilidad a la acción de la insulina y son resistentes a la obesidad inducida por una dieta rica en grasas (12, 13) (Tabla I).

Por último, las rutas de señalización mediadas por la quinasa activada por AMP (AMPK), importante sensor energético de la célula y activador del transporte de glucosa de forma independiente de insulina en músculo esquelético (14); y por la insulina convergen en algunos puntos, de manera que en situaciones de resistencia a insulina también puede verse afectada la cascada de AMPK. No obstante los resultados obtenidos en este campo son contradictorios. Así, algunos autores han defendido que la activación de AMPK inducida por AICAR o hipoxia, es preservada en el músculo esquelético de ratones obesos y de pacientes con diabetes tipo 2, indicando que estos factores pueden mediar la traslocación de

GLUT4 y el transporte de glucosa. Sin embargo, otros grupos han observado que la sobreexpresión de una forma mutada dominante negativa de AMPK en músculo, bloquea completamente la habilidad de AICAR o la hipoxia para activar el transporte de glucosa, mientras que el efecto producido por la contracción es parcialmente reducido (15).

TABLA I.- *Fenotipos desarrollados por ratones knock-out relacionados con la vía de señalización de la insulina.*

GENOTIPO	TEJIDO ESPECÍFICO	FENOTIPO	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA
IR^{-/-}	Organismo completo.	Severa cetoacidosis diabética y muerte.	Bruning y col., 1997
IR^{+/-}		Desarrollo de diabetes.	Kido y col., 2000
IR^{-/-}	Músculo esquelético.	Descenso en la captación de glucosa en músculo y aumento en tejido adiposo. Incremento de la masa grasa y alteraciones en el metabolismo lipídico. Ligera disminución de la tolerancia a la glucosa.	Bruning y col., 1998
	Músculo esquelético. + Tejido adiposo.	Intolerancia a la glucosa.	Lauro y col., 1998
IGFR^{-/-}	Organismo completo.	Hiperglucemia moderada, ya que los efectos metabólicos son compensados por el IR.	Withers y col., 1999
P85^{-/-}	Organismo completo.	Hipoglucemia e hipersensibilidad a insulina, consecuencia del aumento del transporte de glucosa en músculo esquelético y tejido adiposo.	Terauchi y col., 1999
IRS-1^{-/-}	Organismo completo.	Resistencia a insulina e intolerancia a la glucosa. Resistencia a IGF-I e IGF-II y retraso en el crecimiento. Hiperinsulinemia por hiperplasia de las células β Hipertrigliceridemia, hipertensión y una menor capacidad de relajación del endotelio vascular.	Tamemoto y col., 1994 Sesti y col., 2001
	Músculo esquelético.	Disminución la síntesis de proteínas. Datos contradictorios en el transporte de glucosa, ya que puede haber compensación por el IRS-2.	Yamauchi y col., 1996 Previs y col., 2000

TABLA I.- *Fenotipos desarrollados por ratones knock-out relacionados con la vía de señalización de la insulina (cont.).*

<i>IRS-2^{-/-}</i>	Organismo completo.	<i>Resistencia a insulina y disfunción de las células β. Desarrollo de diabetes tipo 2. Pequeño retraso en el crecimiento. Hiperfagia, obesidad y resistencia a la acción de la leptina.</i>	<i>Kido y col., 2000 Burks y col., 2000</i>
	Músculo esquelético.	Compensación por parte del IRS-1 en respuesta a insulina e IGF-I.	Higaki y col., 1999
<i>AKT2^{-/-}</i>	Organismo completo.	Resistencia a insulina en hígado y músculo Hiperinsulinemia e hiperglucemia. Incapacidad de suprimir la producción de glucosa hepática en respuesta a insulina.	Cho y col., 2001
<i>PTP1B^{-/-}</i>	Organismo completo.	Aumento de la sensibilidad a insulina. Resistencia a la obesidad inducida por la dieta.	Klaman y col., 2000 Elchebly y col., 1999
<i>SH-PTP2^{+/-}</i>	Organismo completo.	Aumento en la traslocación de GLUT4 y en el almacenamiento de glucógeno en el músculo.	Clement y col., 2001
<i>GLUT4^{-/-}</i>	Organismo completo.	Retardo en el crecimiento. Moderada resistencia a insulina tras la ingesta, en machos asociada a una hiperglicemia, pero no en hembras.	Katz y col., 1995
<i>GLUT4^{+/-}</i>		Machos desarrollan una severa resistencia a insulina sin obesidad. Cuadro más severo que <i>GLUT4^{-/-}</i> porque no hay compensación por otros transportadores.	Stenbit y col., 1997
<i>GLUT4^{-/-}</i>	Músculo esquelético.	Resistencia a insulina e intolerancia a la glucosa. Aumento en los depósitos de glucógeno hepático. Disminución del transporte de glucosa estimulado por insulina en el músculo y en el organismo completo.	Zisman y col., 2000
<i>JNK1^{-/-}</i>	Organismo completo.	Protección frente a la obesidad y al desarrollo de resistencia a insulina. Disminución de la fosforilación en la serina 307 del IRS-1.	Hirosumi y col., 2002
<i>TNFα^{-/-}</i>	Organismo completo.	Protección frente a la obesidad y resistencia a insulina por una dieta grasa. Aumento en la sensibilidad a insulina. Niveles bajos de ácidos grasos libres circulantes.	Uysal y col., 1997

TABLA I.- *Fenotipos desarrollados por ratones knock-out relacionados con la vía de señalización de la insulina (cont.).*

<i>IL-6^{-/-}</i>	<i>Organismo completo.</i>	<i>Desarrolla obesidad con la edad. Alteración del metabolismo lipídico y de carbohidratos. Aumento de los niveles de leptina y del gasto energético.</i>	<i>Wallenius y col., 2002 Földt y col., 2004</i>
<i>LXRα^{-/-}</i>	Organismo completo.	Acumulación de colesterol en el hígado. Hepatomegalia.	Peet y col., 2002
<i>LXRβ^{-/-}</i>	Organismo completo.	Resistencia a la acumulación de colesterol en hígado ante una dieta rica en colesterol.	Alberti y col., 2003

CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS EN EL DESARROLLO DE RESISTENCIA A INSULINA EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO: TNF α E IL-6

Desde hace décadas, gran cantidad de estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto que el riesgo de padecer diabetes, y presumiblemente resistencia a insulina, aumenta al incrementar el contenido graso del cuerpo. El índice de masa corporal (BMI) es un reflejo de la adiposidad en general, pero hay que destacar que no todos los sitios del organismo donde se acumula la grasa contribuyen de igual manera al desarrollo de estas enfermedades. En este sentido, los depósitos de grasa central (intra-abdominal o visceral) están más relacionados con el riesgo de padecer diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares que los depósitos de grasa periférica (subcutánea), debido a la diferente actividad lipolítica de las células adiposas. Así, en los adipocitos viscerales la liberación de ácidos grasos de los triglicéridos es mayor que en los adipocitos subcutáneos, donde las hormonas antilipolíticas, como la insulina, tienen un efecto más pronunciado, y las catecolaminas, lipolíticas, tienen menor efecto. Como consecuencia, aumentan los niveles y el flujo de ácidos grasos a la circulación portal, y por tanto, en el hígado. Este fenómeno conlleva una estimulación de la gluconeogénesis, un aumento en la síntesis de triglicéridos y una inhibición de la retirada de glucosa de la circulación, desarrollando dislipidemia, hiperglucemia e

hiperinsulinemia, las cuales conducen un aumento en el riesgo de padecer diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares (16).

El adipocito no es sólo un sistema de almacén de lípidos, sino que también es secretor de un número importante de factores circulantes, entre los que se incluyen el TNF α , la IL-6, la leptina, el angiotensinógeno y, las recientemente descritas, adiponectina y resistina. Todos ellos desempeñan un papel importante en el desarrollo de la resistencia a insulina asociada a la obesidad y en la diabetes tipo 2, no solo en el tejido adiposo, sino también en otros tejidos del organismo (17).

TNF α : El TNF α es una citoquina proinflamatoria multifuncional que ejerce una gran cantidad de acciones biológicas en diferentes tejidos y especies. Sin embargo, la producción inapropiada de este factor o la activación sostenida de su cascada de señalización se ha relacionado con la patogénesis de varias enfermedades, por ejemplo, sepsis, osteoporosis, cáncer, diabetes o procesos autoinmunes (18). El TNF α se sintetiza como una proteína monomérica transmembrana de 26 kDa, la cual es proteolizada por una metaloproteasa de membrana, llamada TACE (enzima convertidora de TNF α), que libera una forma soluble de 17 kDa. A pesar de tener diferente tamaño y localización, ambas formas de TNF α son capaces de mediar respuestas biológicas. La transducción de señales por el TNF α es consecuencia de su interacción con dos tipos de receptores: el receptor de TNF α tipo 1, TNFR1, un péptido de 55 y 60 kDa en roedores y humanos, respectivamente; y el receptor de TNF α tipo 2, TNFR2, de 75 kDa en roedores y 80 kDa en humanos. En cuanto a su estructura, ambos receptores poseen cuatro repeticiones del aminoácido cisteína en el dominio extracelular, conservadas evolutivamente, y que son el sitio de unión del ligando en su forma trimérica. Sus dominios intracelulares, que no poseen actividad enzimática, son bastantes diferentes, y de hecho, definen dos subgrupos dentro de la familia de los receptores de TNF α : los que contienen un dominio de muerte (denominados DD), en este caso TNFR1, y que se acoplan a la activación de caspasas y la apoptosis; y aquellos que interaccionan con las proteínas TRAF (factor asociado al receptor de TNF α) o TNFR2, el cual se asocia directamente con TRAF2 e induce la expresión génica (19). Otra diferencia entre ambos receptores es su distribución, mientras que TNFR1

se expresa constitutivamente en la mayoría de los tejidos, la expresión de TNFR2 está estrictamente regulada. Los estudios que se han realizado a este respecto han determinado que, aunque ambos receptores son capaces de transducir la señal, el TNF α lleva a cabo sus acciones mayoritariamente a través del TNFR1, mientras que el TNFR2 juega principalmente un papel regulador en la captación de ligando. Los dos receptores pueden ser liberados de la superficie celular y circular en forma soluble, de manera que, en la resistencia a insulina y en la diabetes tipo 2 los niveles de los TNFRs circulantes son muy elevados (18).

Las proteínas TRAF constituyen el principal grupo de moléculas adaptadoras que se unen directa o indirectamente a los receptores de TNF α . Aunque estas proteínas no parecen poseer ninguna actividad enzimática, pueden inducir la activación de diferentes cascadas de quinasas, como PI3-K, ERK1/2, p38MAPK, JNK o IKKs, y mediar el efecto del TNF α en los procesos de proliferación y diferenciación celular, apoptosis y respuesta inflamatoria (20). Por tanto, a través de sus receptores, esta citoquina puede activar diferentes rutas de transducción de señales, muchas de ellas comunes a las que utilizan la insulina, los IGFs y otros factores de crecimiento, como el FGF.

Puesto que la obesidad es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de resistencia a insulina y diabetes tipo 2, se ha propuesto al TNF α como un nexo de unión entre la obesidad y la resistencia a la hormona (6). De hecho, se ha demostrado que la mayoría de pacientes diabéticos son obesos, que la expresión de TNF α en tejido adiposo está elevada en una variedad de modelos experimentales de obesidad y en personas obesas y que ratones deficientes en TNF α (TNF α ^{-/-}), sometidos a una dieta rica en grasa, presentan protección frente al desarrollo de resistencia a insulina, incluso viendo mejorada la sensibilidad a la misma. Estos ratones tienen niveles bajos de ácidos grasos libres circulantes, pudiendo resultar de la pérdida de los efectos lipolíticos del TNF α en el tejido adiposo, o alternativamente, del aumento de la eficiencia de la insulina para suprimir la lipólisis en ausencia de TNF α (Tabla I) (19). Además, la administración directa de TNF α a ratas adultas produce una disminución en la sensibilidad a la insulina asociada a cambios en la

expresión génica en los adipocitos y a la liberación de ácidos grasos a la circulación, sin afectar a la expresión génica en el músculo (21). Por ejemplo, se ha descrito que el $\text{TNF}\alpha$ aumenta tanto la expresión como actividad de PTP1B en músculo y tejido adiposo marrón, impidiendo el transporte de glucosa estimulado por insulina en ambos tejidos (22, 23). Sin embargo, la deficiencia de esta fosfatasa confiere protección frente a la resistencia a insulina inducida por $\text{TNF}\alpha$ (23). En ensayos *in vitro* el tratamiento con $\text{TNF}\alpha$ también inhibe la acción de la hormona sobre el transporte de glucosa en diferentes modelos celulares, como adipocitos 3T3-L1 o cultivos primarios de adipocitos humanos y marrones fetales de rata (24, 25). Estos resultados indican que el $\text{TNF}\alpha$ es un importante mediador de la resistencia a la acción de la insulina en la obesidad.

Un mecanismo que podría explicar la resistencia a insulina inducida por $\text{TNF}\alpha$ es la alteración causada por esta citoquina sobre la vía de señalización de la insulina (Figura 2). Se ha descrito que el $\text{TNF}\alpha$ inhibe la ruta de la insulina a través de la fosforilación en serina de IRS-1, convirtiéndolo en un inhibidor de la actividad tirosina quinasa del receptor de la insulina *in vivo*, de manera que disminuye la actividad de la enzima PI3-K y el transporte de glucosa (20). También se ha descrito un papel negativo de la JNK sobre la señalización de la insulina, ya que esta ruta media la fosforilación en residuos serina de IRS-1 por $\text{TNF}\alpha$, disminuyendo su fosforilación en tirosina e inhibiendo la señalización de la hormona, fenómeno que se observa en ratones carentes del gen *Jnk1* (Tabla I) (9). Otros trabajos han implicado a las proteínas IKKs en la fosforilación en serina del IRS-1, ya que la inactivación del gen *ikk- β* o el salicilato (inhibidor farmacológico de IKKs) revierten la resistencia a insulina inducida por la obesidad o por una dieta grasa (26), restaurando la sensibilidad a la acción de la insulina en la traslocación de GLUT4 y en el transporte de glucosa, además de recuperar toda la señalización de la hormona en miotubos neonatales (27).

Además de este mecanismo, se ha demostrado una disminución en el contenido total de IRS-1 en modelos animales y celulares resistentes a insulina, consecuencia de hiperinsulinemia o del tratamiento con $\text{TNF}\alpha$, indicando que el IRS-1 es degradado por el proteosoma en estas circunstancias. También se ha sugerido el posible papel de

p42/p44MAPK y p38MAPK, activadas por esta citoquina, en el desarrollo de resistencia a insulina (27), aunque existe controversia al respecto. Se ha descrito que el $\text{TNF}\alpha$ causa resistencia a la acción de la insulina en adipocitos marrones fetales en cultivo primario, disminuyendo la fosforilación de IRS-2 sin verse afectada la señalización de IRS-1 o bien por la producción de ceramida que mantiene a AKT en un estado defosforilado (24).

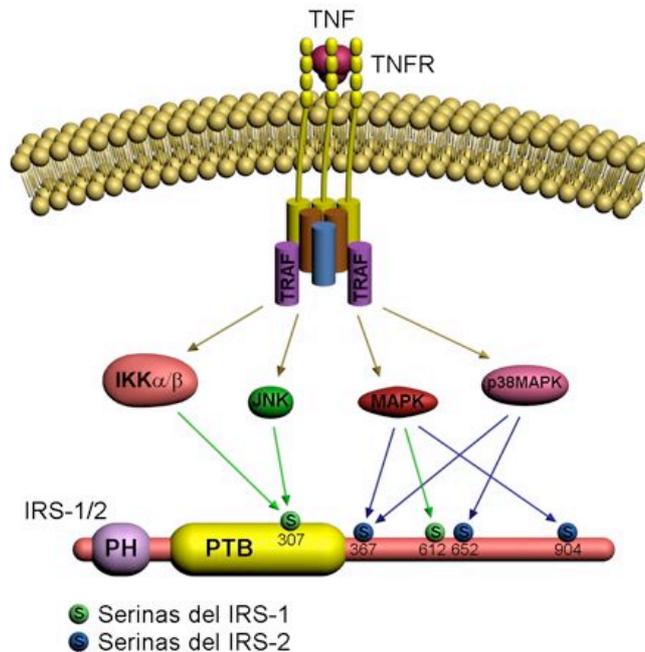


FIGURA 2.- *Esquema de los residuos serina fosforilados por la acción del $\text{TNF}\alpha$ en los sustratos del receptor de insulina.*

Al contrario de lo que se ha descrito en el tejido adiposo, el papel del $\text{TNF}\alpha$ en el músculo esquelético es muy controvertido, y de hecho, los resultados existentes hasta el momento apuntan en diferentes direcciones. Se ha aceptado que tanto la ceramida como los ácidos grasos

circulantes causan resistencia a insulina en el músculo esquelético. Algunos grupos no han observado un efecto inhibitorio de $\text{TNF}\alpha$ sobre la acción de la insulina, aunque sí está más o menos establecido que esta citoquina incrementa el transporte basal de glucosa en este tejido (28), y que este fenómeno puede ser consecuencia de una mayor expresión génica del transportador GLUT1. Sin embargo, otros trabajos han demostrado que la cascada de la insulina se encuentra notablemente afectada en presencia de $\text{TNF}\alpha$. Así, el tratamiento de miotubos de la línea muscular C2C12 con esta citoquina disminuye la fosforilación en residuos tirosina de IRS-1, la activación de PI3-K asociada a IRS-1 e IRS-2, la fosforilación de p42/p44MAPK y el transporte de glucosa estimulados por insulina. Además, resultados recientes de nuestro laboratorio han demostrado que el $\text{TNF}\alpha$ produce resistencia a insulina en miotubos primarios neonatales por un mecanismo dependiente de la activación de la isoforma β de p38MAPK e $\text{IKK}\beta$ que implica la fosforilación en el residuo serina 307 del IRS-1, lo que supone una disminución en la traslocación de GLUT4 y en el transporte de glucosa en respuesta a insulina y la atenuación de la ruta de señalización de la hormona (27).

Por otro lado, el $\text{TNF}\alpha$ también afecta a los depósitos de glucosa y de glucógeno, así como a la actividad de la enzima glucógeno sintasa en el músculo esquelético (29). Además bloquea las acciones hemodinámicas de la insulina en el músculo liso; y disminuye la fosforilación del receptor de insulina, actuando a través de las $\text{PKC}\alpha$ y $\text{PKC}\delta$, perjudicando de esta manera toda la señalización activada por la hormona en el tejido muscular (30). De hecho, esta citoquina fosforila a la proteína fosfatasa PP-1, en este caso inactivándola, de forma que inhibe la síntesis de glucógeno inducida por insulina, y en concreto, este último mecanismo de actuación del $\text{TNF}\alpha$ ha sido descrito en sistemas celulares de músculo esquelético. Finalmente, se ha visto que los receptores de insulina aislados de biopsias de músculo de pacientes con resistencia a la hormona presentan muchos residuos serina y treonina fosforilados y una menor actividad intrínseca tirosina quinasa, comparados con los receptores de insulina de sujetos sanos (6).

En otro tipo de experimentos se ha demostrado que la administración de anticuerpos específicos contra el $\text{TNF}\alpha$ a ratas envejecidas revierte completamente el estado de resistencia a insulina que padecen estos animales consecuencia de su edad, únicamente en el músculo esquelético. Este fenómeno es debido a una disminución en la cantidad de $\text{TNF}\alpha$ específica de tejido, ya que en el tejido adiposo el contenido proteico de esta citoquina no es afectado bajo estas circunstancias (6). Por último, en otro sentido, el $\text{TNF}\alpha$ reduce la expresión de la enzima creatina quinasa muscular, la cantidad de los receptores de acetilcolina e inhibe la formación de células multinucleadas en el músculo esquelético, es decir, esta citoquina ejerce un papel negativo sobre la miogénesis (29).

IL-6: Recientemente se ha relacionado a la IL-6 con el desarrollo de resistencia a insulina. Se ha observado un aumento en los niveles plasmáticos de IL-6 en situaciones de obesidad, intolerancia a la glucosa y diabetes tipo II (31). La expresión de $\text{TNF}\alpha$ a nivel local y de IL-6 en plasma es mayor en pacientes obesos con resistencia a insulina. Sin embargo, al contrario de lo que sucede con el $\text{TNF}\alpha$, existen pocos estudios que argumenten el potencial metabólico de la IL-6 para modificar la sensibilidad a la insulina y causar resistencia a la misma.

La IL-6 es un miembro de la familia de las citoquinas formada por el factor inhibidor de leucemia, la IL-11, el factor neurotrófico ciliar, la oncostatina M y la cardiotrofina 1. Todos ellos poseen una alta similitud en su estructura proteica en hélice y comparten la subunidad glucoproteica transmembrana del receptor gp130. La IL-6 es una proteína que puede ser glicosilada en los residuos 73 y 172. Así, su peso molecular oscila entre 22-27 kDa, dependiendo de las modificaciones postraduccionales que sufra y del tipo celular dónde se sintetice. En realidad, es sintetizada como una proteína precursora de 212 aminoácidos, con 28 de ellos como una secuencia señal (31).

Esta citoquina es producida por muchos tipos celulares; *in vivo* se ha visto que las principales fuentes son monocitos y macrófagos, células gliales, fibroblastos y células endoteliales vasculares, lo cual es indicativo del importante papel modulador de la IL-6 en el sistema inmune. Otras células que también expresan IL-6 son queratinocitos, osteoblastos, células T, células B, neutrófilos, eosinófilos, células musculares lisas y

células del músculo esquelético (31). Recientemente se ha observado que, entre un 10-35% de la IL-6 basal circulante procede del tejido adiposo, lo cual permite pensar en esta citoquina como un posible mediador metabólico. Se ha descrito una mayor susceptibilidad a desarrollar obesidad y alteraciones metabólicas en ratones deficientes en IL-6, pudiendo ser causa de la obesidad la deficiencia central de esta citoquina (Tabla I) (32). De hecho, se ha descrito que una inyección intracraneal de esta citoquina podría disminuir la masa grasa vía sistema nervioso central (32). Sin embargo, el papel de esta citoquina en la obesidad es aún confuso, ya que su concentración parece estar aumentada en la obesidad como citoquina proinflamatoria.

En condiciones normales, los niveles plasmáticos de IL-6 son bajos, sin embargo su producción se puede ver alterada en condiciones de estrés, infección o ejercicio. Por tanto, la IL-6 es una proteína de localización ubicua cuya expresión es estimulada por diferentes agentes tanto fisiológicos como patológicos. Algunos de ellos son IL-1, TNF α y endotoxina bacteriana. Además, la hipoxia induce la expresión de IL-6 en cultivo de células endoteliales, e *in vivo* incrementa sus niveles plasmáticos, mientras que, glucocorticoides y estrógenos, pueden suprimir su producción (31).

La IL-6 ejerce sus múltiples acciones actuando a través de su unión a un complejo formado por una subunidad de 80 kDa (IL-6R α), y por dos homodímeros transmembrana de la glicoproteína (gp) 130. Esta última, se asocia con otras tirosina quinasas activas como Jak1, Jak2 y Tyk2, las cuales activan a su vez por fosforilación a las proteínas STAT1, STAT3 y STAT5. Las proteínas STATs activas, forman homo o heterodímeros que pueden translocarse al núcleo y activar la transcripción de diferentes factores, lo que desencadena una compleja red de señalización. La IL-6 circulante, puede unirse también, de manera específica, a la forma soluble del IL-6R α (gp50). Este complejo, puede acoplarse posteriormente a la subunidad transmembrana gp130, y activar así, la cascada de señalización de la IL-6, incluso en aquellas células que no expresan IL-6R α (31).

La ruta de señalización de la IL-6 puede interaccionar en diferentes puntos con la cascada de señalización de la insulina. De hecho, se ha descrito que las proteínas SOCS (supresor de la señalización de

citoquinas), en concreto la isoforma SOCS-3, interaccionan directamente con IR β e IRS-1 inhibiendo la señalización por insulina. En adipocitos 3T3-L1 el tratamiento crónico con IL-6 induce la expresión de SOCS-3, efecto que es revertido por el tratamiento con rosiglitazona, antidiabético que se está utilizando actualmente en la clínica (33), y dicho supresor es sobreexpresado en el tejido adiposo de ratones obesos.

Se ha visto que estimulaciones largas con IL-6 incrementan el transporte basal de glucosa en adipocitos 3T3-L1, mientras que la estimulación en agudo no ejerce ningún efecto. En las líneas adipocíticas 3T3-L1 y 3T3-F442A el tratamiento crónico con IL-6 induce su propia secreción, disminuye la cantidad total de IR β e IRS-1 además de inhibir la activación por insulina de IR β , IRS-1, AKT y ERK1/2, y disminuye la lipogénesis y el transporte de glucosa estimulados por insulina (33). Existe también algún estudio realizado en células adiposas humanas en cultivo donde se observa como la IL-6 es capaz de incrementar la lipólisis y la oxidación de grasas, afectando posiblemente a la homeostasis de la glucosa de forma indirecta (34). A diferencia del TNF α , la IL-6 en tejido adiposo no aumenta la fosforilación en residuos de serina de IRS-1 ni la activación de JNK, pero sí ejerce un efecto inhibitorio a nivel transcripcional sobre IRS-1 y GLUT4 disminuyendo el transporte de glucosa estimulado por insulina, y sobre algunos genes específicos del tejido adiposo como PPAR γ y C/EBP α (33).

La IL-6 también parece desempeñar un papel importante en el desarrollo de resistencia a insulina en el hígado. Así, niveles elevados de IL-6 pueden estar relacionados con la inhibición de la enzima glucógeno sintasa hepática, la activación de la enzima glucógeno fosforilasa y de la lipólisis, y de un incremento en la producción de ácidos grasos. El tratamiento crónico con IL-6 de la línea celular HepG2 y de hepatocitos de ratón inhibe el efecto de la insulina sobre la fosforilación en residuos de tirosina de IRS-1 y su asociación con la subunidad p85 de la PI3K, además de la activación de AKT y la síntesis de glucógeno. También se ha descrito la capacidad de la IL-6 para incrementar los niveles de las proteínas SOCS en este tejido (35).

El papel que tiene la IL-6 en el tejido muscular esquelético es más controvertido hasta el momento. De hecho no hay publicaciones que realmente afiancen su implicación en la resistencia a insulina, sino más

bien el efecto contrario. Está muy bien documentado que la concentración plasmática de IL-6 aumenta más de 100 veces después de realizar algún ejercicio. Tanto la transcripción del gen como la secreción de la IL-6 son mayores cuando los niveles de glucógeno son bajos. Este incremento está además relacionado con la intensidad y la duración del ejercicio físico y con la masa muscular implicada, y en algunos trabajos se ha relacionado también con el nivel plasmático de catecolaminas (36). Se ha postulado recientemente a la quinasa AMPK como nexo de unión entre el ejercicio y la IL-6 en el músculo. La IL-6 aumenta la fosforilación de AMPK tanto en el músculo como en el tejido adiposo. De hecho, ratones delecionados para IL-6 (IL-6^{-/-}) presentan menor fosforilación de AMPK y de ACC (acetil CoA carboxilasa) en ambos tejidos (Tabla I) (37). Por otra parte, la IL-6 está involucrada en el metabolismo lipídico en el músculo esquelético. Esta citoquina atenúa los efectos lipogénicos de la insulina incrementando la oxidación de los ácidos grasos, y el tratamiento conjunto de IL-6 y leptina inhibe la síntesis de DAG inducida por TNF α en músculo (38).

También, se ha descrito que la IL-6 media la producción endógena de glucosa durante el ejercicio, y es importante en el mantenimiento de la homeostasis glucídica. Este efecto no parece ser dependiente de los niveles circulantes de algunas hormonas, ya que las concentraciones de insulina, glucagón, epinefrina, norepinefrina, cortisol u hormona del crecimiento no se alteran respecto a su control. Hay evidencias que sugieren que la IL-6 podría sensibilizar a la insulina. Por ejemplo, ratones diabéticos no obesos que sobreexpresan el gen humano de la IL-6 sobreviven más tiempo, y ratones deficientes en IL-6 (IL-6^{-/-}) tienen niveles de glucosa más elevados y una peor distribución de la misma durante un test de tolerancia (32) (Tabla I). Por ello, podría llamarse a la IL-6 como una nueva mioquina implicada en el metabolismo lipídico y glucídico, al menos durante la realización de un ejercicio físico y que actúa como un sensor energético.

TRATAMIENTO DE LA RESISTENCIA A INSULINA EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO CON AGONISTAS DE RECEPTORES NUCLEARES

La diabetes de tipo 2 es considerada como una de las enfermedades metabólicas más frecuentes en el mundo occidental. No obstante, los tratamientos terapéuticos y preventivos existentes hasta la fecha son insuficientes. En los últimos años se ha sugerido una relación funcional entre la superfamilia de receptores nucleares, entre los que se encuentran los factores de transcripción PPAR, los receptores nucleares hepáticos LXR α y de ácidos RARs, y la fisiopatología de esta enfermedad.

Los receptores nucleares son factores de transcripción dependientes de ligando, que controlan una gran variedad de procesos biológicos como crecimiento, diferenciación, metabolismo, reproducción, inflamación y morfogénesis en organismos superiores y humanos. Estos factores regulan transcripcionalmente la expresión de numerosos genes en respuesta a pequeños compuestos lipofílicos, ideales por su habilidad para difundir a través de la membrana, mediante la unión a secuencias específicas del DNA en forma de heterodímeros formados con el receptor nuclear RXR.

Los miembros de la superfamilia de receptores nucleares son proteínas que presentan una organización modular, con un dominio central de unión a DNA denominado DBD, muy conservado y que les caracteriza. Además de este dominio de unión al DNA, suelen diferenciarse: una región N-terminal, que es una región no conservada, de tamaño e importancia funcional muy variable; y una región C-terminal que engloba una región bisagra, un dominio de dimerización con RXR y el dominio de unión a ligando (LBD), que es un dominio conservado en esta superfamilia, aunque menos que el DBD.

La región N-terminal es la más variable, tanto en tamaño como en secuencia y función, puesto que desempeña un papel importante en la inducción de la transcripción ya que se ha descrito en esta región un dominio AF-1 que está implicado en la transactivación independiente de ligando. Frecuentemente, esta región es diana de fosforilación para varias rutas de señalización, pudiendo afectar significativamente esta modificación, a su actividad transcripcional. La región C-terminal contiene también una zona capaz de activar la transcripción dependiente

de ligando (AF-2). Se piensa que este dominio, AF-2, interacciona con otros factores (coactivadores) necesarios para dicha transcripción.

PPAR: Dentro de la familia de los receptores nucleares se encuentran incluidos los receptores de PPAR, los cuales juegan un papel clave en el catabolismo y almacenamiento de las grasas de la dieta. Estos receptores PPAR, heterodimerizan con la familia de receptores para el ácido 9-cis-retinoico (RXR) y son activados por ácidos grasos saturados e insaturados, o sus metabolitos, procedentes de la dieta. Los PPAR pueden ser regulados por fosforilación de varios de sus residuos, afectando este proceso a la capacidad de unión de sus ligandos o a su unión al DNA (39). Debido a su función en el mantenimiento de la homeostasis lipídica, algunos de los activadores de los PPARs, como las tiazolidindionas, fibratos o estatinas, se emplean hoy en día para el tratamiento de desórdenes lipídicos, aumentando las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y la sensibilidad a insulina, y disminuyendo los niveles de triglicéridos (40).

Hasta la fecha, se han identificado tres isoformas de PPAR con una distribución tisular y actividades biológicas diferentes: PPAR α , PPAR γ y PPAR β/δ (Figura 3). **PPAR α** fue la primera isoforma de PPAR clonada, se expresa en tejidos y órganos con una alta actividad metabólica como músculo esquelético, hígado, corazón y riñón, donde regula el catabolismo de ácidos grasos. Se han descrito ligandos naturales y sintéticos como los eicosanoides y los ácidos grasos insaturados, que aumentan la expresión de genes implicados en el transporte y la β -oxidación de los ácidos grasos. La activación de PPAR α , favorece la oxidación de ácidos grasos principalmente en hígado y corazón y, en menor medida, en músculo esquelético, reduciendo así, la adiposidad y la redistribución de los depósitos de grasa. El aumento de la oxidación de los ácidos grasos, es uno de los mecanismos que explican cómo los ligandos de PPAR α pueden, en ocasiones, mejorar la sensibilidad a insulina reduciendo la acumulación de lípidos en los tejidos (40). En el músculo esquelético, defectos en el gen que codifica para PPAR α , disminuyen la β -oxidación (41) y la expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico. Sin embargo, PPAR δ , tanto en músculo de

humanos, como de roedores, es capaz de compensar los defectos debidos a fallos en la expresión de PPAR α (41).

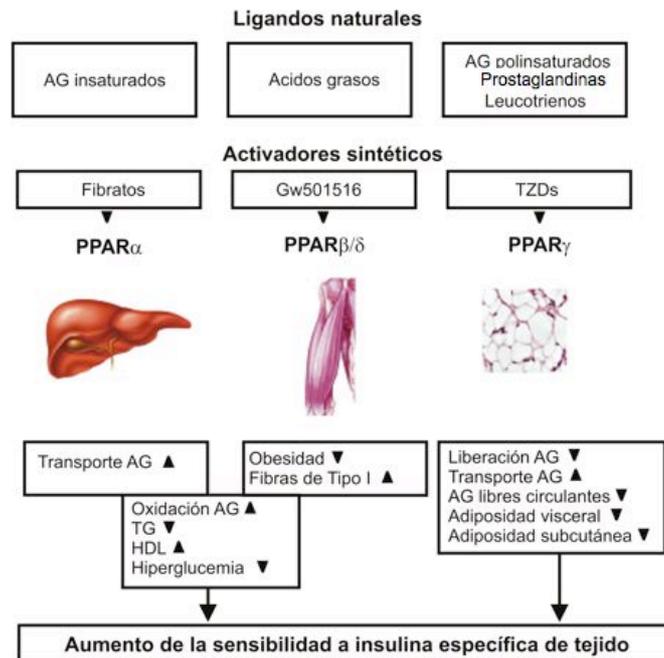


FIGURA 3.- *Ligandos naturales y activadores sintéticos de los PPAR y sus principales tejidos diana de actuación.*

PPAR β/δ se expresa de manera ubicua, aunque sobre todo en tejidos sensibles a insulina como el tejido adiposo y el músculo esquelético. Aunque se trata de la isoforma más abundante en músculo esquelético, su función y regulación no están totalmente definidas. Estudios recientes, han determinado que su función parece estar relacionada con la transcripción de genes del metabolismo lipídico, definiéndolo como un importante regulador del gasto energético. Por ejemplo, su sobreexpresión en el tejido adiposo marrón induce la síntesis de UCP-1 y de genes implicados en la oxidación de ácidos grasos (42).

Se han descrito a los prostanoides como sus ligandos naturales, aunque también se han desarrollado agonistas sintéticos como el GW501516. La administración de este agonista, en modelos animales, produce un aumento de la oxidación de ácidos grasos en músculo esquelético. Conjuntamente, la sobreexpresión de la forma activa de PPAR δ en este tejido, confiere resistencia a la obesidad inducida por la dieta, aumenta el metabolismo lipídico y disminuye los niveles de triglicéridos en las células musculares (43). Asimismo, se ha relacionado la sobreexpresión de PPAR δ con un aumento en el número de fibras musculares de tipo I (42).

PPAR γ ha sido el miembro de la familia más estudiado. Se expresa principalmente en tejido adiposo y aunque en menor medida en macrófagos. Se han identificado los ácidos grasos polinsaturados, prostaglandinas y leucotrienos, como ligandos naturales de PPAR γ , y las TZDs, como sus agonistas sintéticos. Su función se ha relacionado con la regulación de procesos inflamatorios además de su participación en la diferenciación de los adipocitos y homeostasis de la glucosa (40), donde contribuye a la disminución en los niveles circulantes de ácidos grasos en los paciente diabéticos, mejorando la sensibilidad a la insulina y la función de la célula β -pancreática. En este sentido, el ratón deficiente para PPAR γ desarrolla resistencia a insulina severa (44) sin embargo, cuando sometemos al ratón heterocigoto (PPAR γ a una dieta rica en grasas, mejora la sensibilidad a insulina, disminuyen los ácidos grasos y aumentan las adipoquinas (leptina y adiponectina) presentes en plasma, siendo además, sus adipocitos de menor tamaño que los del ratón normal (40).

Las TZDs son una clase de drogas antidiabéticas orales que mejoran el control metabólico en pacientes con diabetes tipo 2 a través del aumento de la sensibilización a la acción de la insulina. Las TZDs disminuyen la resistencia a insulina y actúan sobre factores asociados con el metabolismo de los adipocitos. Actualmente tres TZDs (troglitazona, rosiglitazona y pioglitazona) ligandos específicos del PPAR γ , han sido aprobadas para el tratamiento de la diabetes tipo 2. Aunque la Troglitazona ha sido retirada del mercado por su efecto adverso de hepatotoxicidad, con las dos últimas no se han visto efectos desfavorables

sobre el hígado. A pesar de que son comúnmente utilizadas en la práctica clínica, sin embargo, el mecanismo por el que median la sensibilización a la acción de la insulina no está totalmente definido. Se ha descrito que estos agentes disminuyen la hiperglucemia porque directamente reducen la resistencia a insulina, conduciendo a un aumento del transporte de glucosa en músculo esquelético y en tejido adiposo, y a una disminución en la producción de glucosa hepática. Además, las TZDs aumentan la expresión de la proteína CAP y de GLUT4 lo que contribuye también, en cierta medida, a aliviar la hiperglucemia (40). Por otra parte las TZDs parecen mejorar también la función de la célula β en el páncreas. Recientemente se ha visto que la terapia con rosiglitazona mejora el efecto antilipolítico de la insulina *in vivo*, en el tejido adiposo de pacientes con diabetes tipo 2 (45). En paralelo a este efecto, las TZDs podrían inducir también la redistribución de lípidos intracelulares desde músculo esquelético, hígado y páncreas hacia adipocitos periféricos, conduciendo a una restauración de la señalización de la insulina en estos tejidos.

A pesar de la relevancia de las TZDs descrita en tejido adiposo, también es importante su papel en el músculo esquelético aunque la expresión de PPAR γ en este tejido sea relativamente baja. La sobreexpresión de PPAR γ en células C2C12 tratadas con TZDs, parece mejorar la sensibilidad a insulina. Además, la estimulación de miocitos L6 con TZDs, restaura la transducción de señales mediante la activación de la vía AMPK (46) aumentando, consecuentemente, el transporte de glucosa. En este sentido, otros investigadores, han descrito que el tratamiento de células musculares con TZDs incrementa la relación AMP/ATP, por lo que podría establecerse una relación entre la regulación de PPAR γ en respuesta al ejercicio. No obstante, los mecanismos encaminados a esclarecer estos procesos, son aún muy controvertidos (45).

Respecto al mecanismo de acción responsable de los efectos antidiabéticos de las TZDs, estudios recientes realizados en animales, parecen explicar la aparente paradoja que existe en la utilización de fármacos antidiabéticos que favorecen la ganancia de peso corporal y la adipogénesis para el tratamiento de la diabetes tipo 2, siendo la obesidad el factor de riesgo más importante para el desarrollo de esta patología.

Además, existen otros efectos negativos colaterales, como la alteración del perfil lipídico y la disminución de la hemoglobinemia y del hematocrito, éstas últimas parecen deberse a un aumento del volumen plasmático. Por lo que sería necesario desarrollar nuevos fármacos agonistas de receptores nucleares que sean capaces de evitar el aumento de peso y las alteraciones del perfil lipídico.

LXR: Identificados originalmente como miembros huérfanos de la superfamilia de receptores nucleares, los LXRs (*Liver X Receptors*) desempeñan un papel primordial en el metabolismo lipídico y de carbohidratos, en la homeostasis glucídica y en la respuesta inflamatoria. Esta subfamilia consta de dos miembros, LXR α y LXR β , ambos activados por compuestos naturales (oxiesteroles como el (22R)-hidroxicolesterol) y ligandos sintéticos como el compuesto T0901317 o el GW3965. La distribución tisular de estas isoformas es diferencial: mientras la expresión de LXR β es ubicua; el LXR α se detecta mayoritariamente en tejidos diana para la acción de la insulina como el hígado, el tejido adiposo y el músculo esquelético (47).

Los estudios iniciales realizados en ratones deficientes en LXR, describieron a estos receptores como sensores del metabolismo lipídico y del colesterol ya que inducen el transporte de colesterol desde tejidos periféricos al hígado, mediante la producción de apolipoproteínas y transportadores ABC y la producción de ácidos grasos y triacilglicerol, a través de la inducción de la expresión del factor SREBPc1. No obstante, datos recientes apuntan hacia nuevas funciones fisiológicas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos (48). Se ha observado que el tratamiento de diferentes modelos animales diabéticos con estos agonistas de los LXRs, inhibe la expresión de enzimas gluconeogénicas en el hígado, como la PEPCK; reduce la concentración de glucosa en plasma, aumentando la tolerancia a la misma e incrementa la sensibilidad a insulina. Además, se ha comprobado que, tanto en el hígado como en el tejido adiposo blanco, la activación de los LXRs incrementa la captación de glucosa a través de los transportadores GLUT1 y GLUT4 (49).

Por otro lado, estudios recientes relacionan a los LXRs con la obesidad, ya que se han identificado genes diana como la leptina y la UCP-1, moléculas implicadas en el control del estado nutricional. Además, en macrófagos, los LXR inhiben la expresión de genes

relacionados con procesos inflamatorios (47). En este sentido, en nuestro grupo hemos relacionado la resistencia a insulina asociada a la obesidad, con la regulación mediada por los LXR en la producción de $\text{TNF}\alpha$, ya que se ha descrito a esta citoquina proinflamatoria, como nexo de unión entre ambas patologías (22). No obstante, actualmente se desconoce la implicación de estos receptores nucleares en la producción de $\text{TNF}\alpha$ por parte de el tejido adiposo, proceso íntimamente relacionado con la sensibilidad a insulina por parte de los tejidos periféricos.

RAR y RXR: Los receptores RAR (*Retinoic Acid Receptor*) y RXR (*Retinoic X Receptor*) se expresan principalmente en aquellos tejidos diana de la acción de la insulina. Al igual que los factores PPAR, estos receptores nucleares están implicados en la diferenciación adipocítica, aunque en los últimos años ha cobrado fuerza la utilización de agonistas específicos como posibles agentes sensibilizadores a la acción de la insulina. De este modo, se ha comprobado que activadores sintéticos del RXR (rexinoides) pueden atenuar la hiperglicemia, la hipertriglicemia y la hiperinsulinemia de ratones obesos y diabéticos de manera similar a las TZD. No obstante, y a diferencia de estas últimas, los rexinoides provocan una disminución del peso corporal y presentan un amplio espectro de tejidos (50). Por otro lado, la activación de los RXRs y RARs induce la expresión génica de ciertas UCPs (*uncoupling proteins*), proteínas mitocondriales implicadas en la regulación del gasto energético y en el metabolismo de ácidos grasos. Asimismo, y al igual que los LXRs, se ha descrito que los retinoides (agonistas de los RARs) presentan acciones antiinflamatorias e inmunomoduladoras. Estudios recientes muestran cómo estos agonistas atenúan la expresión de iNOS (*inducible Nitric Oxid Synthase*) inducida por $\text{TNF}\alpha$ en líneas celulares adipocitarias. Sin embargo, la relación entre la activación de los receptores de retinoicos y la generación de NO es un hecho controvertido. Por otro lado, también se ha descrito como el ácido retinoico es capaz de inhibir la expresión de la resistina, adipoquina implicada en la sensibilidad sistémica a la insulina, por parte del tejido adiposo (47).

La implicación de estos RXR, RAR y LXR en el metabolismo del colesterol, ácidos grasos y glucosa, y recientemente como integradores de procesos inflamatorios, sugiere que estos receptores están ampliamente relacionados con el riesgo de desarrollar diabetes cuando no son

funcionales (50). Por lo que el desarrollo de agonistas de estos receptores nucleares sería una interesante herramienta terapéutica para la resistencia a insulina asociada a la obesidad y la diabetes tipo 2.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha contado con la financiación de los proyectos BFU-2005-03054 del Ministerio de Educación y Ciencia; S-SAL-0159-2006 de la Comunidad de Madrid; Santander-UCM-06; CIBERDEM CB07-08-0007 del Ministerio de Sanidad y Consumo. Agradecemos también el apoyo de la acción europea COST BM0602.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) ZIERATH, J. R. AND KAWANO, Y. (2003) The effect of hyperglycaemia on glucose disposal and insulin signal transduction in skeletal muscle. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 17: 385-398.
- (2) LIZCANO, J. M. AND ALESSI, D. R. (2002) The insulin signalling pathway. *Curr. Biol.* 12: R236-R238.
- (3) ITANI, S. I.; PORIES, W. J.; MACDONALD, K. G. AND DOHM, G. L. (2001) Increased protein kinase C theta in skeletal muscle of diabetic patients. *Metabolism.* 50: 553-557.
- (4) KROOK, A.; BJORNHOLM, M.; GALUSKA, D.; JIANG, X. J.; FAHLMAN, R.; MYERS, M. G. JR.; WALLBERG-HENRIKSSON, H. AND ZIERATH, J. R. (2000) Characterization of signal transduction and glucose transport in skeletal muscle from type 2 diabetic patients. *Diabetes.* 49: 284-292.
- (5) RONDINONE, C.M.; WANG, L. M.; LONNROTH, P.; WESSLAU, C.; PIERCE, J. H. AND SMITH, U. (1997) Insulin receptor substrate (IRS) 1 is reduced and IRS-2 is the main docking protein for phosphatidylinositol 3-kinase in adipocytes from subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94: 4171-4175.
- (6) BORST, S. E. (2004) The role of TNF-alpha in insulin resistance. *Endocrine.* 23: 177-182.
- (7) BROZINICK, J. T. JR.; ROBERTS, B. R. AND DOHM, G. L. (2003) Defective signaling through Akt-2 and -3 but not Akt-1 in insulin-resistant human skeletal muscle: potential role in insulin resistance. *Diabetes.* 52: 935-941.
- (8) VOLLENWEIDER, P.; MENARD, B. AND NICOD, P. (2002) Insulin resistance, defective insulin receptor substrate 2-associated phosphatidylinositol-3' kinase

- activation, and impaired atypical protein kinase C (zeta/lambda) activation in myotubes from obese patients with impaired glucose tolerance. *Diabetes*. 51: 1052-1059.
- (9) HIROSUMI, J.; TUNCMAN, G.; CHANG, L.; GORGUN, C. Z.; UYSAL, K. T.; MAEDA, K.; KARIN, M. AND HOTAMISLIGIL, G. S. (2002) A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*. 420: 333-336.
- (10) BENNETT, B. L.; SATOH, Y. AND LEWIS, A. J. (2003) JNK: A new therapeutic target for diabetes. *Curr. Opin. Pharmacol.* 3: 420-425.
- (11) KOREN, S. AND FANTUS, G. (2007) Inhibition of the protein tyrosine phosphatase PTP1B: potential therapy for obesity, insulin resistance and type-2 diabetes mellitus. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 8: 621-640.
- (12) ELCHEBLY, M.; PAYETTE, P.; MICHALISZYN, E.; CROMLISH, W.; COLLINS, S.; LOY, A. L.; NORMANDIN, D.; CHENG, A.; HIMMS-HAGEN, J.; CHAN, C. C.; RAMACHANDRAN, C.; GRESSER, M. J.; TREMBLAY, M. L. AND KENNEDY, B. P. (1999) Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. *Science*. 283: 1544-1548.
- (13) KLAMAN, L.D.; BOSS, O.; PERONI, O. D.; KIM, J. K.; MARTINO, J. L.; ZABOLOTNY, J. M.; MOGHAL, N.; LUBKIN, M.; KIM, Y. B.; SHARPE, A. H.; STRICKER-KRONGRAD, A.; SHULMAN, G. I.; NEEL, B. G. AND KAHN, B. B. (2000) Increased energy expenditure, decreased adiposity, and tissue-specific insulin sensitivity in protein-tyrosine phosphatase 1B-deficient mice. *Mol. Cell Biol.* 20: 5479-5489.
- (14) MUSI, N. AND GOODYEAR, L. J. (2003) AMP-activated protein kinase and muscle glucose uptake. *Acta Physiol Scand.* 178: 337-345.
- (15) MU, J.; BROZINICK, J. T. JR.; VALLADARES, O.; BUCAN, M. AND BIRNBAUM, M. J. (2001) A role for AMP-activated protein kinase in contraction- and hypoxia-regulated glucose transport in skeletal muscle. *Mol. Cell.* 7: 1085-1094.
- (16) ARNER, P. (2003) The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol. Metab.* 14: 137-145
- (17) HOLST, D. AND GRIMALDI, P. A. (2002) New factors in the regulation of adipose differentiation and metabolism. *Curr. Opin. Lipidol.* 13: 241-245.
- (18) CHEN, G. AND GOEDDEL, D. V. (2002) TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science*. 296: 1634-1635.
- (19) WAJANT, H.; PFIZENMAIER, K. AND SCHEURICH, P. (2003) Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death. Differ.* 10: 45-65.
- (20) DEMPSEY, P.W.; DOYLE, S. E.; HE, J. Q. AND CHENG, G. (2003) The signaling adaptors and pathways activated by TNF superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev.* 14: 193-209.
- (21) RUAN, H.; MILES, P. D.; LADD, C. M.; ROSS, K.; GOLUB, T. R.; OLEFSKY, J. M. AND LODISH, H. F. (2002) Profiling gene transcription in vivo reveals adipose tissue as an immediate target of tumor necrosis factor-alpha: implications for insulin resistance. *Diabetes*. 51: 3176-3188.

- (22) BODEN, G. AND SHULMAN, G. I. (2002) Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur. J. Clin. Invest.* 32 Suppl 3: 14-23.
- (23) FERNANDEZ-VELEDO, S.; NIETO-VAZQUEZ, I.; RONDINONE, C. M. AND LORENZO, M. (2006) Liver X receptor agonists ameliorate TNF α -induced insulin resistance in murine brown adipocytes by downregulating protein tyrosine phosphatase-1B gene expression. *Diabetologia.* 49: 3038-3048.
- (24) NIETO-VAZQUEZ, I.; FERNANDEZ-VELEDO, S.; DE ALVARO, C.; RONDINONE, C. M.; VALVERDE, A. M. AND LORENZO, M. (2007) Protein-Tyrosine Phosphatase 1B-Deficient Myocytes Show Increased Insulin Sensitivity and Protection Against Tumor Necrosis Factor- α -Induced Insulin Resistance. *Diabetes.* 56: 404-413.
- (25) LORENZO, M.; FERNÁNDEZ-VELEDO, S.; VILA-BEDMAR, R.; GARCIA-GUERRA, L.; DE ALVARO, C. AND NIETO-VAZQUEZ, I. (2007) Insulin resistance induced by tumor necrosis factor- α in myocytes and brown adipocytes. *Journal of Animal Science.* 86: E94-E104.
- (26) YUAN, M.; KONSTANTOPOULOS, N.; LEE, J.; HANSEN, L.; LI, Z. W.; KARIN, M. AND SHOELSON, S. E. (2001) Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of I κ B β . *Science.* 293: 1673-1677.
- (27) DE ALVARO, C.; TERUEL, T.; HERNANDEZ, R. AND LORENZO, M. (2004) Tumor necrosis factor α produces insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor κ B kinase in a p38 MAPK-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 279: 17070-17078.
- (28) PLOMGAARD, P.; BOUZAKRI, K.; KROGH-MADSEN, R.; MITTENDORFER, B.; ZIERATH, J. R. AND PEDERSEN, B. K. (2005) Tumor necrosis factor- α induces skeletal muscle insulin resistance in healthy human subjects via inhibition of Akt substrate 160 phosphorylation. *Diabetes.* 54: 2939-2945.
- (29) HALSE, R.; PEARSON, S. L.; MCCORMACK, J. G.; YEAMAN, S. J. AND TAYLOR, R. (2001) Effects of tumor necrosis factor- α on insulin action in cultured human muscle cells. *Diabetes.* 50: 1102-1109.
- (30) ROSENZWEIG, T.; BRAIMAN, L.; BAK, A.; ALT, A.; KUROKI, T. AND SAMPSON, S. R. (2002) Differential effects of tumor necrosis factor- α on protein kinase C isoforms α and δ mediate inhibition of insulin receptor signaling. *Diabetes.* 51: 1921-1930.
- (31) FEBBRAIO, M. A. AND PEDERSEN, B. K. (2005) Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ? *Exerc. Sport Sci. Rev.* 33:114-9.
- (32) WALLENIS, V.; WALLENIS, K.; AHRÉN, B.; RUDLING, M.; CARLSTEN, H.; DICKSON, S. L.; OHLSSON, C. AND JANSSON, J. O. (2002) Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat. Med. Jan.* 8: 75-9.
- (33) LAGATHU, C.; BASTARD, J. P.; AUCLAIR, M.; MAACHI, M.; CAPEAU, J. AND CARON, M. (2003) Chronic interleukin-6 (IL-6) treatment increased IL-6

- secretion and induced insulin resistance in adipocyte: prevention by rosiglitazone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 311: 372-379.
- (34) HISCOCK, N.; FISCHER, C. P.; SACCHETTI, M.; VAN HALL, G.; FEBBRAIO, M. A. AND PEDERSEN, B. K. (2005) Recombinant human interleukin-6 infusion during low-intensity exercise does not enhance whole body lipolysis or fat oxidation in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 289: E2-7.
- (35) SENN, J. J.; KLOVER, P. J.; NOWAK, I. A. AND MOONEY, R. A. (2002) Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes. *Diabetes.* 51: 3391-3399.
- (36) KELLER, P.; KELLER, C.; CAREY, A. L.; JAUFFRED, S.; FISCHER, C. P.; STEENBERG, A.; AND PEDERSEN, B. K. (2003) Interleukin-6 production by contracting human skeletal muscle: autocrine regulation by IL-6. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310: 550-554.
- (37) KELLY, M.; KELLER, C.; AVILUCEA, P. R.; KELLER, P.; LUO, Z.; XIANG, X.; GIRALT, M.; HIDALGO, J.; SAHA, A. K.; PEDERSEN, B. K. AND RUDERMAN, N. B. (2004) AMPK activity is diminished in tissues of IL-6 knockout mice: the effect of exercise. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 320: 449-54.
- (38) BRUCE, C.R. AND DYCK, D. J. (2004) Cytokine regulation of skeletal muscle fatty acid metabolism: effect of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α . *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 287: E616-E621.
- (39) DIRADOURIAN, C.; GIRARD, J. AND PEGORIER, J. P. (2005) Phosphorylation of PPARs: from molecular characterization to physiological relevance. *Biochimie.* 87: 33-8.
- (40) MOLLER, D. E. AND BERGER, J. P. (2003) Role of PPARs in the regulation of obesity-related insulin sensitivity and inflammation. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 27 Suppl 3: S17-21
- (41) MUOIO, D. M.; MACLEAN, P. S.; LANG, D. B.; LI, S.; HOUMARD, J. A.; WAY, J. M.; WINEGAR, D. A.; CORTON, J. C.; DOHM, G. L. AND KRAUS, W. E. (2002) Fatty acid homeostasis and induction of lipid regulatory genes in skeletal muscles of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha knock-out mice. Evidence for compensatory regulation by PPAR delta. *J. Biol. Chem.* 277: 26089-97.
- (42) WANG, C.; MAO, X.; WANG, L.; LIU, M.; WETZEL, M. D.; GUAN, K. L.; DONG, L. Q. AND LIU, F. (2007) Adiponectin sensitizes insulin signaling by reducing p70 S6 kinase-mediated serine phosphorylation of IRS-1. *J. Biol. Chem.* 282: 7991-7996.
- (43) TANAKA, T.; YAMAMOTO, J.; IWASAKI, S.; ASABA, H.; HAMURA, H.; IKEDA, Y.; WATANABE, M.; MAGOORI, K.; IOKA, R. X.; TACHIBANA, K.; WATANABE, Y.; UCHIYAMA, Y.; SUMI, K.; IGUCHI, H.; ITO, S.; DOI, T.; HAMAKUBO, T.; NAITO, M.; AUWERX, J.; YANAGISAWA, M.; KODAMA, T. AND SAKAI, J. (2003) Activation of peroxisome proliferator-activated receptor delta induces fatty acid betaoxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 100: 15924-9.

- (44) HEVENER, A. L.; HE, W.; BARAK, Y.; LE, J.; BANDYOPADHYAY, G.; OLSON, P.; WILKES, J.; EVANS, R. M. AND OLEFSKY, J. (2003) Muscle-specific Pparg deletion causes insulin resistance. *Nat. Med.* 9: 1491-7.
- (45) VALVERDE, A. M.; BENITO, M. AND LORENZO, M. (2005) The brown adipose cell: a model for understanding the molecular mechanisms of insulin resistance. *Acta Physiol. Scand.* 183: 59-73.
- (46) LESSARD, S. J.; CHEN, Z. P.; WATT, M. J.; HASHEM, M.; REID, J. J.; FEBBRAIO, M. A.; KEMP, B. E. AND HAWLEY, J. A. (2006) Chronic rosiglitazone treatment restores AMPK α 2 activity in insulin-resistant rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 290: E251-7.
- (47) LAFFITTE, B.A.; CHAO, L.C.; LI, J.; WALCZAK, R.; HUMMASTI, S.; JOSEPH, S. B.; CASTRILLO, A.; WILPITZ, D.C.; MANGELSDORF, D. J.; COLLINS, J. L.; SAEZ, E. AND TONTONAZ P. (2003) Activation of liver X receptor improves glucose tolerance through coordinate regulation of glucose metabolism in liver and adipose tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 100: 5419-24.
- (48) STEFFENSEN, K. R. AND GUSTAFSSON, J. A. (2004). Putative metabolic effects of the liver X receptor (LXR). *Diabetes.* 53 Suppl 1: S36-S42.
- (49) JUVET, L. K.; ANDRESEN, S. M.; SCHUSTER, G. U.; DALEN, K. T.; TOBIN, K. A.; HOLLUNG, K.; HAUGEN, F.; JACINTO, S.; ULVEN, S. M.; BAMBERG, K.; GUSTAFSSON, J. A. AND NEBB, H. I. (2003) On the role of liver X receptors in lipid accumulation in adipocytes. *Mol. Endocrinol.* 17: 172-182.
- (50) VILLARROYA, F.; IGLESIAS, R. AND GIRALT, M. (2004) Retinoids and retinoid receptors in the control of energy balance: novel pharmacological strategies in obesity and diabetes. *Curr. Med. Chem.* 11: 795-805.