

Resistencia a insulina en el músculo esquelético: ejercicio y activación de receptores nucleares como estrategias terapéuticas

MARGARITA LORENZO *

RESUMEN

La resistencia a la insulina es un estado patológico que se define como la incapacidad del organismo de responder normalmente a las acciones de la insulina. Este estado está ligado a la obesidad, al estilo sedentario de vida y es responsable en gran medida de la aparición de la diabetes de tipo 2. Aunque tradicionalmente el estudio de esta patología se había centrado en el metabolismo de carbohidratos, en las últimas décadas se ha producido un cambio hacia el estudio del metabolismo de ácidos grasos como principal promotor de esta enfermedad. El músculo es el responsable de la mayor parte del metabolismo de la glucosa en situaciones de estimulación por insulina. Esto confiere al músculo una vital importancia en el desarrollo de la resistencia a la insulina así como para el tratamiento de la diabetes de tipo 2. Existen distintas estrategias terapéuticas a la hora de abordar el tratamiento de la diabetes tipo 2. Uno de los modelos farmacológicos más extendido se basa en el uso de agonistas para los receptores nucleares, entre ellos las tiazolidindionas, agonistas PPAR γ . El tratamiento fisiológico que ha resultado más efectivo hasta el momento en el tratamiento de la diabetes tipo 2 es la realización de ejercicio. El ejercicio promueve la pérdida de peso, el control en los niveles de glucosa sanguíneos y la mejora en la sensibilidad a insulina a nivel tisular. A nivel molecular, los estudios de las rutas de señalización implicadas en los efectos beneficiosos del ejercicio, están siendo un foco de estudio creciente en la actualidad.

* En agradecimientos.

ABSTRACT

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. Skeletal muscle is responsible for 70-80% of whole-body insulin-stimulated glucose uptake and is therefore generally considered the most important site of insulin resistance. Several pharmacological approaches have been considered in the recent years for the diabetes type 2 treatment. Some of them focus in the activity and biological functions of the nuclear receptors PPAR, LXRs and RARs. From a physiological point of view, physical activity has been considered as the better treatment for diabetes type 2 disorder, given that it promotes weight loosing, exerts a good control of the glucose levels, as well as it improves insulin sensitivity in different tissues. In the recent years, the molecular events that are triggered with exercise are an interest focus of research.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitas constituye uno de los principales problemas de salud pública en la actualidad ya que ha alcanzado proporción epidémica y afecta actualmente a más de 170 millones de personas en todo el mundo. La diabetes es una enfermedad provocada por una desregulación en el metabolismo de los carbohidratos y de los ácidos grasos, ya sea debido a un fallo en la producción de insulina o a un fallo en su acción sobre sus tejidos diana, provocando un aumento de los niveles plasmáticos de glucosa, tanto en situaciones de ayuno como en estados postabsortivos, y que conduce al desarrollo de patologías asociadas si no se inicia un tratamiento adecuado. En concreto, la diabetes tipo 2 o insulino-dependiente, 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.

Mantener una dieta sana y hacer ejercicio regularmente son dos aspectos muy importantes para la prevención y el tratamiento de la diabetes. Incluso manteniendo un estilo de vida sano, muchos pacientes necesitan intervención farmacológica que estimulen la secreción de insulina por la célula β , pancreática, inhiban la producción hepática de glucosa o que sensibilicen el músculo y el te-

jido adiposo a la insulina. Sin embargo, el 30-40% de los pacientes no están adecuadamente controlados con estas terapias y necesitan inyectarse insulina para normalizar sus niveles de glucosa, con el riesgo de sufrir una hipoglucemia y sus fatales consecuencias.

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 del transportador de glucosa sensible a insulina, GLUT4, y en la captación 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 (1).

Estudios epidemiológicos 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). 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 lleva a cabo 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 enfer-

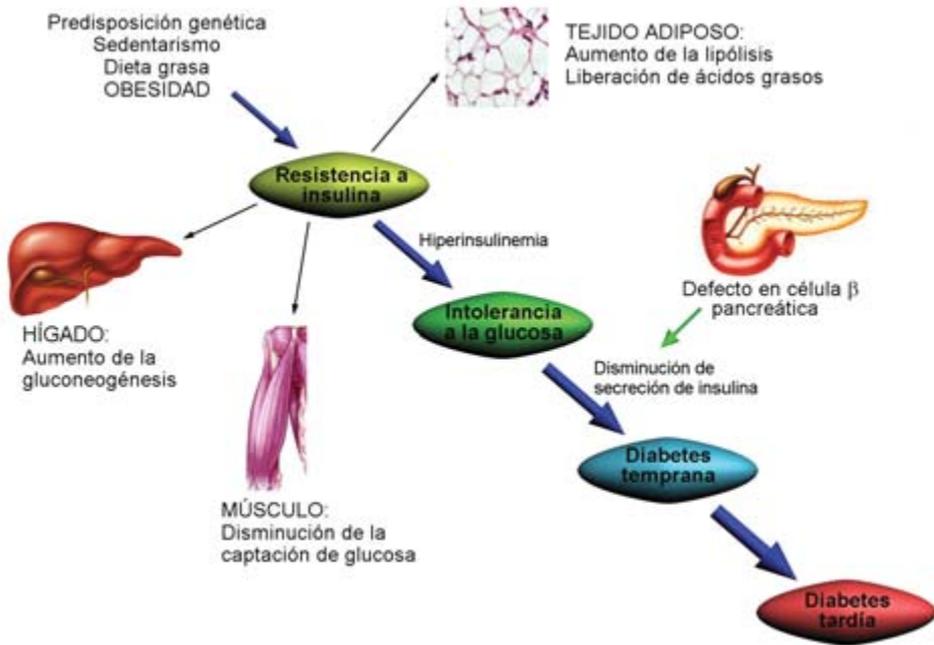


FIGURA 1. Etapas en el desarrollo de la diabetes tipo 2.

medad 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 anomalías, incluyendo un aumento de triglicéridos, una disminución de los niveles de lipoproteínas de alta densidad, un aumento de secreción de lipoproteínas de muy baja densidad, 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 (1).

MECANISMOS MOLECULARES DE LA RESISTENCIA A INSULINA EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO

El músculo esquelético es un importante tejido diana para la acción de la insulina, siendo responsable de aproximadamente el 80% de la utilización de la

glucosa tras la ingestión de carbohidratos o la infusión directa del azúcar (2). Además, alrededor de un 80% de esta glucosa es almacenada en forma de glucógeno. Por lo que el músculo es considerado el mayor contribuidor a la resistencia a la insulina en la diabetes de tipo 2, de hecho, diferentes evidencias clínicas han demostrado que es en el músculo esquelético donde se detectan los primeros indicios de la resistencia a insulina. La principal consecuencia de este fenómeno es una disminución en la captación de glucosa al interior de la fibra muscular en respuesta a la hormona, debido a múltiples alteraciones en la vía de señalización de la insulina en este tejido. Como resultado, se originan modificaciones en el perfil lipídico, hiperglucemia, hiperinsulinemia y otros trastornos metabólicos que secundariamente, perjudican la acción de la insulina en otros órganos, fenómeno que se complica progresivamente. De hecho, en pacientes diabéticos, la glucosa captada en respuesta a insulina es un 30-40% menor que en individuos no diabéticos, y un 90% de esta disminución es debida a la menor captación por tejidos periféricos, principalmente por el músculo. Todo esto confiere al músculo esquelético una vital importancia en el desarrollo de la resistencia a la insulina y lo convierte en posible diana farmacológica para el tratamiento de la diabetes de tipo 2.

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 (Figura 2). 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 (IR), en algunos casos consecuencia de un aumento en la cantidad de serinas fosforiladas (2). 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 (2). 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 IR respecto a los sujetos sanos (3).

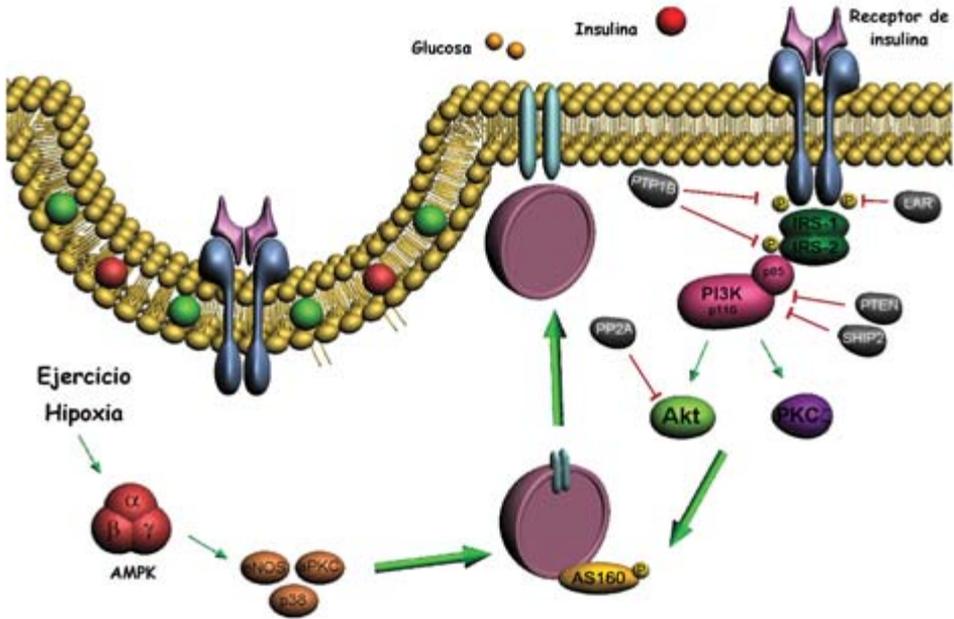


FIGURA 2. Señales de la insulina y el ejercicio que promueven el transporte de glucosa en el músculo esquelético.

Los sustratos del receptor de insulina (IRS) que principalmente se expresan en el músculo esquelético son IRS-1 e 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 (3). Se han identificado varios residuos, por ejemplo la serina 307 de IRS-1 en músculo de roedores (serina 312 en humanos), que pueden ser fosforilados por diferentes quinasas, impidiendo la interacción del dominio catalítico del receptor de insulina con el dominio PTB del IRS-1 (2). 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 (3). Además, citoquinas proinflamatorias 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 in-

ulina, disminuyen la actividad de la fosfatidilinositol 3-quinasa (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 (c-Jun N-terminal quinasa), IKK (quinasa del inhibidor de NF-kB), PKC (proteína quinasa C) y MAPK (proteínas quinasas activadas por mitógenos) (4).

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. Estudios realizados en pacientes con obesidad mórbida y resistencia a insulina, se ha demostrado que la hormona únicamente es capaz de activar a la isoforma 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 (5).

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 λ está significativamente afectada (6). Por tanto, se ha estipulado la posibilidad de que algunos factores genéticos puedan contribuir a esta alteración sobre las PKC λ , aunque aún no se ha descrito 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 (7).

Otro de los mecanismos propuestos como mediador de la resistencia a insulina es el aumento en el contenido de proteínas tirosina fosfatasas (PTP)s. 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. 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 (8,9).

Por último, las rutas de señalización mediadas por AMPK (quinasa activada por AMP), importante sensor energético de la célula y activador del transporte de glucosa de forma independiente de insulina en músculo esquelético

(10); 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 (Figura 2). No obstante los resultados obtenidos en este campo son contradictorios. Así, algunos autores han defendido que la activación de AMPK inducida por el ribonucleótido AICAR, la hipoxia, o el ejercicio (como se detallará más adelante), es preservada en el músculo esquelético de ratones obesos y de pacientes con diabetes tipo 2, indicando que estos factores pueden contribuir a la traslocación de GLUT4 y al transporte de glucosa (2). 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 (11).

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

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 tejido adiposo no es sólo un sistema de almacén de lípidos, sino que también es un órgano secretor de un número importante de factores circulantes, denominados adipoquinas, entre los que se incluyen el TNF α y la IL-6. Todas ellas 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 (12). De hecho, estudios recientes llevados a cabo en adipocitos y miocitos humanos demuestran que la alteración en el perfil secretor del tejido adiposo produce en el músculo esquelético las primeras manifestaciones de resistencia a insulina (13).

El TNF α (**factor de necrosis tumoral**) es una citoquina proinflamatoria multifuncional que ejerce una gran cantidad de acciones biológicas en diferentes tejidos y especies. 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 (4). 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 gran variedad de modelos experimentales de obesidad y en personas obesas, y que ratones deficientes en 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 (6). Además, la administración directa de $\text{TNF}\alpha$ 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 (14). 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 (15,16). Sin embargo, la deficiencia de esta fosfatasa confiere protección frente a la resistencia a insulina inducida por $\text{TNF}\alpha$ en músculo esquelético (17).

Un mecanismo que podría explicar la resistencia a insulina inducida por TNF ? es la alteración causada por esta citoquina sobre la vía de señalización de la hormona. 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, de manera que disminuye la actividad de la enzima PI3-K y el transporte de glucosa (4). 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. Asimismo, se ha descrito en adipocitos marrones fetales en cultivo primario, que el $\text{TNF}\alpha$ causa resistencia a la acción de la insulina disminuyendo la fosforilación de IRS-2, sin verse afectada la señalización de IRS-1, o bien por la producción de ceramidas, que mantiene a AKT en un estado defosforilado (18). Finalmente, también se ha sugerido la implicación de las quinasas JNK, p42/p44MAPK y p38MAPK, activadas por esta citoquina, en el desarrollo de resistencia a insulina (19), aunque existe controversia al respecto.

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. Algunos grupos han establecido que esta citoquina incrementa el transporte basal de glucosa en este tejido (20), 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 recién-

tes 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 (19).

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 (4,18). 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 (18). De hecho, en músculo esquelético esta citoquina fosforila a la proteína fosfatasa-1, inactivándola, de forma que inhibe la síntesis de glucógeno inducida por insulina (18).

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 se ve afectado en estas circunstancias (18). Por último, 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 ejerciendo un papel negativo sobre el proceso miogénico (18).

Existen numerosas evidencias que relacionan el desarrollo de la diabetes tipo 2 con un estado crónico de inflamación. Se ha identificado la citoquina proinflamatoria **IL-6 (interleuquina-6)** como factor de riesgo y/o mediador de la resistencia a insulina en hígado, tejido adiposo y músculo esquelético así como en el desarrollo de diabetes tipo 2, debido a la observación de que sus niveles en plasma son muy elevados en pacientes con esta enfermedad metabólica (21). Así, niveles elevados de esta citoquina se han asociado con marcadores indirectos de adiposidad, de hecho, algunos autores han descrito niveles elevados de IL-6 circulante en individuos obesos y en diabéticos tipo 2. Por otro lado, la realización de ejercicio intenso tiene efectos totalmente contrarios, como la mejora de la sensibilidad a insulina, llegando a revertir situaciones de resistencia a insulina y previniendo la aparición de diabetes tipo 2 (22). Además, se sabe que la IL-6 se libera rápidamente a la circulación después de la realización de ejercicio intenso pudiendo aumentar la homeostasis glucídica en todo el orga-

nismo, por lo que resulta paradójico que el músculo pueda liberar un factor que inhibe la señalización de insulina, cuando el efecto de dicha hormona aumenta en el periodo inmediatamente posterior a la realización de ejercicio. Por tanto, el papel de la IL-6 en la etiología de la resistencia a insulina está aún por determinar y es objeto de muchas controversias.

Los mecanismos moleculares mediante los que la IL-6 causa resistencia o sensibilidad a insulina en el músculo esquelético no se conocen con exactitud. Sin embargo, se han propuesto diferentes puntos en los que la IL-6 puede interaccionar con la cascada de señalización de la insulina. Por un lado la activación de ciertas quinasas proinflamatorias, así como la de proteínas supresoras de la señalización de citoquinas (SOCS) podrían mediar, en parte, la resistencia a insulina, inhibiendo la fosforilación en tirosina de los IRSs (23). De hecho, estudios recientes indican que el tratamiento crónico con IL-6 induce la fosforilación en la serina 307 de IRS-1 por un mecanismo dependiente de la quinasa JNK (24). Además, se ha descrito en músculo esquelético de ratón que el tratamiento crónico con IL-6 induce la expresión de SOCS-3, efecto que es revertido por el tratamiento con agonistas de los LXR y por la inhibición de JNK (24). De hecho, recientemente se ha descrito un efecto similar en adipocitos marrones tratados con otro agonista de LXR, T091317, en presencia de TNF α (16).

Otro de los mecanismos propuestos como mediador de la resistencia a insulina por citoquinas, es la defosforilación por fosfatasas de proteínas que juegan un papel crucial en la vía de señalización de la hormona (4, 18, 21). De hecho, estudios de los últimos años, han demostrado que la IL-6 (24) y otras citoquinas como el TNF α (16; 17), pueden modular la señalización de insulina a través de la activación de PTP1B.

Por otro lado, 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 (25). 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 diacilglicerol (DAG) inducida por TNF α en músculo (21). 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, norepinefri-

na, 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 (25). 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, que actúa como sensor energético (22).

ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EN EL TRATAMIENTO DE LA RESISTENCIA A INSULINA EN MÚSCULO ESQUELÉTICO: AGONISTAS DE RECEPTORES NUCLEARES

Como se ha comentado anteriormente, la resistencia a la insulina precede al desarrollo de la diabetes tipo 2, que como ya se ha mencionado anteriormente, es considerada como una de las enfermedades metabólicas más frecuentes en el mundo occidental. Por esta razón, el desarrollo de intervenciones terapéuticas para la resistencia a la insulina es de vital importancia para prevenir el desarrollo de la diabetes de tipo 2 y sus complicaciones asociadas. Avances recientes en los mecanismos de transducción de señal y diferenciación celular han conducido a nuevas aproximaciones para el tratamiento de la resistencia a la insulina. Uno de los mayores retos de este esfuerzo es la necesidad de conseguir moléculas que tengan su impacto en el metabolismo sin alterar otras vías que puedan producir efectos secundarios no deseados. Por lo tanto es necesario tener en cuenta la distribución de los tejidos, la localización celular y la selectividad, cuando se diseñan fármacos moduladores de enzimas o receptores. No obstante, los tratamientos terapéuticos y preventivos existentes hasta la fecha son insuficientes. Por ello, en los últimos años se ha sugerido una relación funcional entre la superfamilia de los receptores nucleares 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 que heterodimerizan con la familia de receptores para el ácido 9-cis-retinoico, RXR (Retinoic X Receptor).

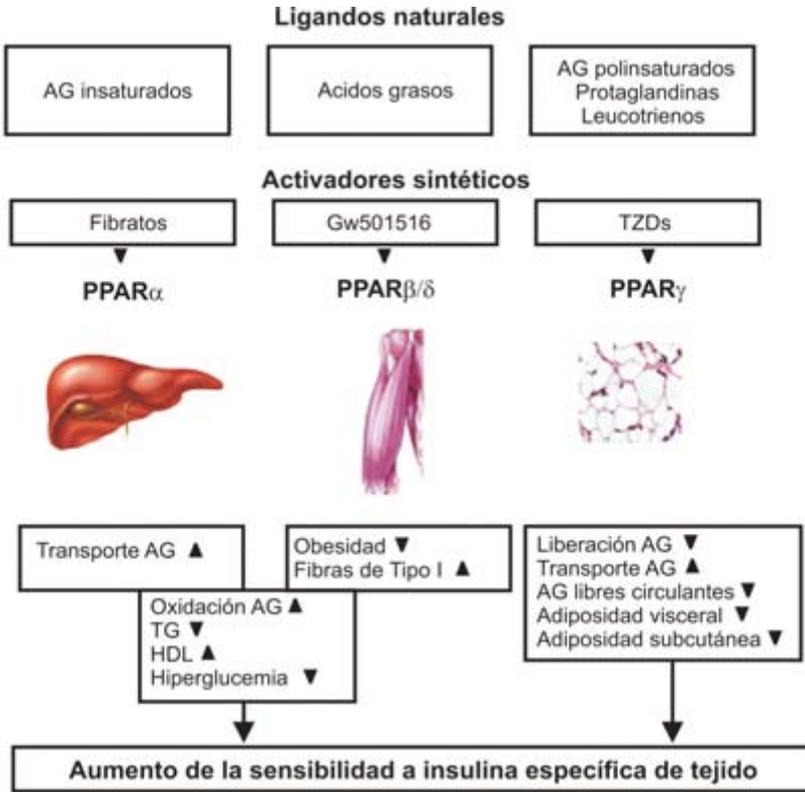


FIGURA 3. Ligandos naturales y activadores sintéticos de los PPAR y sus principales tejidos diana de actuación.

Entre los receptores nucleares se encuentran los factores de transcripción PPAR (Receptor Activado por Proliferadores Peroxisomales), los receptores nucleares hepáticos LXR (Liver X Receptors) y de ácidos RARs (Retinoic Acid Receptor).

Los receptores de **PPAR** juegan un papel clave en el catabolismo y almacenamiento de las grasas de la dieta. Estos receptores son activados por ácidos grasos saturados e insaturados, o por sus metabolitos procedentes de la dieta (Figura 3). Debido a su función en el mantenimiento de la homeostasis lipídica, algunos de los activadores de los PPARs, como las tiazolidindionas (TZDs), fibratos o estatinas, se emplean hoy en día para el tratamiento de desórdenes lipídicos, aumentando las lipoproteínas de alta densidad y la sensibilidad a insulina, y disminuyendo los niveles de triglicéridos (26).

Las TZDs, ligandos específicos de PPAR γ , son una clase de drogas antidiabéticas orales muy utilizadas actualmente, 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 reducen los niveles plasmáticos de glucosa y consecuentemente disminuyen la hiperinsulinemia mejorando la estimulación de la captación de glucosa y la inhibición de la producción hepática de glucosa por la insulina. Además provocan una mejora sustancial de la resistencia a la insulina en músculo, mejorando la captación de glucosa estimulada por insulina, contribuyendo a una mayor síntesis de glucógeno y oxidación de glucosa (27).

A pesar de la relevancia de las TZDs descrita en tejido adiposo, también es importante su papel en músculo esquelético, aunque la expresión de PPAR γ en este tejido sea relativamente baja. La sobreexpresión de PPAR γ en células murinas tratadas con TZDs, parece mejorar la sensibilidad a insulina al restaurar su vía de transducción de señales mediante la activación de la ruta AMPK (28) aumentando, consecuentemente, el transporte de glucosa. Además, 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 (15). Por otro lado, la acumulación de lípidos dentro de las fibras musculares contribuye significativamente a la aparición y al desarrollo de la resistencia a la insulina, por lo que, su reducción mediante el empleo de estos agonistas es también una buena estrategia terapéutica en los primeros estadios de resistencia a insulina (2).

Sin embargo, 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. Así, tras un tratamiento largo, el incremento en la masa del tejido adiposo provocado por las TZDs produce resistencia a insulina, además de un aumento en los niveles de colesterol-LDL, retención de fluidos, hepatotoxicidad e hipertrofia cardíaca (27). 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.

En este sentido, el empleo de agonistas de las isoformas **PPAR β/δ** principalmente abundantes en músculo esquelético, constituye también una buena diada para el tratamiento de la resistencia a insulina en este tejido. 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 y de la captación de glucosa por el músculo esquelético. Asimismo, 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 (29).

Por otro lado, recientemente han sido identificados los **LXRs**, que desempeñan un papel primordial en el metabolismo lipídico y de carbohidratos, en la homeostasis glucídica y en la respuesta inflamatoria. Esta subfamilia de receptores nucleares 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 (30). Se ha observado que el tratamiento de diferentes modelos animales diabéticos con estos agonistas de los LXRs, inhibe la expresión de enzimas gluconeogénicos en el hígado, como la fosfoenolpiruvato carboquinasa; reduce la concentración de glucosa en plasma, aumentando la tolerancia a la misma e incrementa la sensibilidad a insulina (30). De hecho, estudios recientes realizados en músculo esquelético demuestran que el tratamiento con GW3965 recupera la resistencia a insulina inducida por IL-6 disminuyendo la expresión de PTP1B (24). 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 (30).

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 (proteína desacoplante-1), moléculas implicadas en el control del estado nutricional (30). En este sentido, se ha relacionado la resistencia a insulina asociada a la obesidad, con la regulación mediada por los LXR en la producción de TNF α , ya que se ha descrito a esta citoquina proinflamatoria, como nexo de unión entre ambas patologías (16).

Finalmente, se han descrito los receptores **RAR** y **RXR**. Se expresan principalmente en aquellos tejidos diana de la acción de la insulina e igualmente que los factores PPAR, estos receptores nucleares están implicados en la diferenciación adipocítica, aunque en los últimos años ha cobrado fuerza la utilización de sus agonistas específicos como posibles agentes sensibilizadores a la acción de la insulina. De este modo, se ha comprobado que los rexinoides, activadores sintéticos del RXR, 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 (31). Por otro lado, la activación de los RXRs y RARs induce la expresión génica de ciertas UCPs, proteínas mitocondriales implicadas en la regulación del gasto energético y en el metabolismo de ácidos grasos (30).

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 (30, 31). 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.

BENEFICIOS DEL EJERCICIO FISICO EN EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2

Uno de los aspectos fundamentales en el tratamiento de la diabetes tipo 2 es la práctica de ejercicio físico. Son múltiples los beneficios que se derivan de la actividad física regular, tales como la pérdida de peso, el control en los niveles de glucosa sanguíneos y la mejora en la sensibilidad a insulina a nivel tisular, entre otros. A nivel poblacional, la promoción de un estilo de vida activa ayudará a combatir patologías tan extendidas en la actualidad como la obesidad, que resulta a su vez un factor de riesgo en el desarrollo de trastornos de tipo cardiovascular. En los últimos años, diversas publicaciones epidemiológicas han ofrecido datos estadísticos significativos acerca de los riesgos asociados a la inactividad física. La probabilidad de manifestar desórdenes coronarios, hipertensión, cáncer de colon, infarto, cáncer de mama, osteoporosis y diabetes tipo 2, es mayor en aquellos individuos sedentarios que en los que realizan actividad física diaria (32).

Aunque desde un punto de vista superficial parezca obvio que el ejercicio resulta beneficioso para nuestra salud, es relativamente escaso el conocimiento científico que actualmente se tiene acerca de los mecanismos subyacentes a la práctica de ejercicio que den una explicación a las bondades de una vida activa. Una línea argumental que ha sido apoyada en los últimos años, es la consideración de nuestro pasado evolutivo para explicar la aparición de múltiples trastornos metabólicos en la sociedad actual. Así, si consideramos que la evolución del hombre actual se desarrolló durante miles de años bajo unas circunstancias en las cuales la actividad física resultaba fundamental para la supervivencia, podremos comprender el origen de muchos de los trastornos que padece la sociedad sedentaria actual (33). Son diversas las publicaciones recientes que asocian la falta de actividad física de nuestra población con la aparición de desórdenes metabólicos, como la diabetes tipo 2 y que apuntan que, el ejercicio físico debe ser tratado como una cuestión biológica fundamental.

El concepto de «adaptación al medio», descrito tiempo atrás por Charles Darwin, se basa en la selección natural de aquellos genes que favorecen la supervivencia en unas circunstancias determinadas. Así, aquellos individuos con mayor capacidad para adaptarse a un entorno cambiante se verán aventajados respecto a otros, en términos de reproducción y supervivencia. Existen distintas estrategias adaptativas a nivel de expresión de proteínas y que se basan, bien en el cambio en la secuencia de nucleótidos del ADN genómico o polimorfismos, en modificaciones epigenéticas de los nucleótidos (metilaciones) que alteran la expresión o en el cambio en la expresión de los genes existentes en periodos muy cortos (horas, días, semanas) para promover variaciones en los niveles de proteína y en actividades catalíticas. Estas adaptaciones en la secuencia de ADN pueden dotar a un individuo de ventajas o desventajas frente al entorno. Hace unos años se empezó a considerar el hecho de que la actividad física, entendida como un elemento esencial de supervivencia, pudiera originar alteraciones a nivel de expresión génica, así como adaptaciones bioquímicas (34), actuando de esa manera como un factor de selección natural más. Así, los genes codificantes para las rutas metabólicas humanas serían seleccionados en los últimos 50.000 años (Paleolítico tardío) para adaptar el metabolismo a una actividad física diaria intensa. El concepto de «genes ahorradores» fue propuesto por vez primera por Neel (35), argumentando que nuestro genotipo fue seleccionado porque aportaba ventajas evolutivas. Estos genes, serían excepcionalmente eficientes ante la gran variación de ciclos metabólicos condicionados por un entorno cambiante e imprevisible: alimento-ayuno, ejercicio-descanso (Figura 4).

Los investigadores Britton y Koch realizaron una serie de estudios experimentales basados en un método de selección artificial de ratas altamente cualificadas para la actividad física durante once generaciones. El análisis comparativo a nivel muscular, de aquellos animales peor adaptados al ejercicio frente a los altamente cualificados, revelaba cambios significativos a nivel de expresión de proteínas como el PPAR γ , el PPAR γ coactivador 1 α , la Ubiquitinol-Citocromo C Oxidoreductasa, la Citocromo C Oxidasa, la UCP-2 y la ATP sintetasa acoplada a la bomba de protones mitocondrial (36). Además, estudios realizados posteriormente revelaban niveles inferiores de glucosa sanguínea y de insulina plasmática, una menor relación grasa visceral/peso corporal así como un detrimento en los niveles de triacilglicéridos plasmáticos (37).

Así mientras el entorno llevó a cabo la selección de determinadas secuencias de genes durante miles de años de evolución, el ambiente actual en el que prevalecen hábitos sedentarios combinados con una alimentación rica en grasas, afecta al modo en la que estos genes «antiguos» (genes ahorradores) expresan proteínas. El hombre

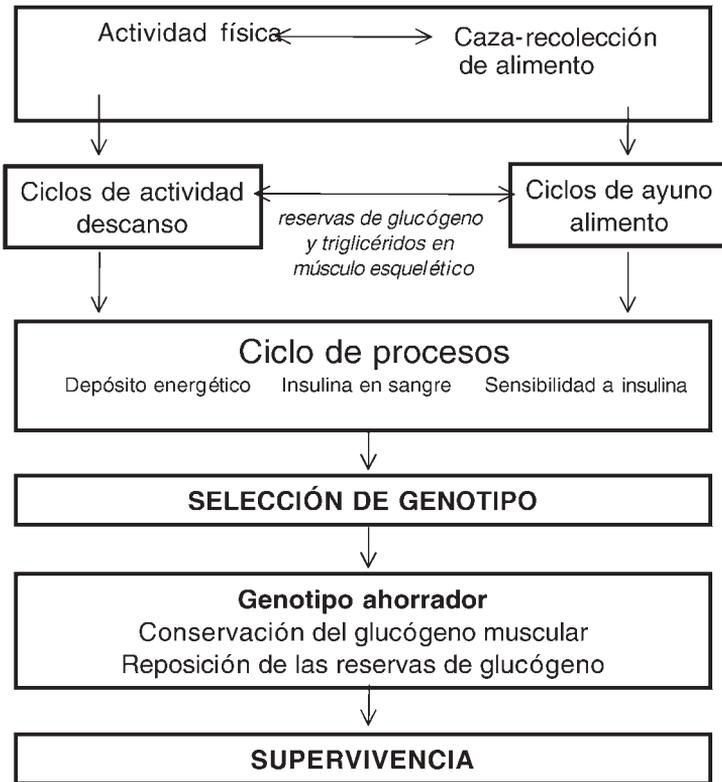


FIGURA 4. El esquema representa las posibles interacciones entre los ciclos de actividad física y los procesos metabólicos (50.000-10.000 años AC), que finalmente resultarían en la selección de un genotipo ahorrador.

de la sociedad actual ya no es físicamente tan activo como nuestros ancestros cazadores-recolectores, ni tan siquiera como nuestros predecesores más recientes hace 100 años. Sin embargo, esta condición nueva, la inactividad física, no ha ejercido la presión selectiva suficiente, en este corto intervalo de tiempo, como para haber promovido aquellos polimorfismos y adaptaciones beneficiosos para la inactividad física. Los estudios realizados en la última década revelan que, si bien el riesgo de padecer diabetes tipo 2 tiene una componente hereditaria, éste se ve en gran medida potenciado por un estilo de vida sedentario y carente de actividad física.

El organismo sufre adaptaciones fisiológicas cuando se enfrenta a periodos de inactividad física (un reposo en cama ocasionado por enfermedad, por ejemplo). Ante un sedentarismo prolongado el cuerpo pierde masa muscular y ósea, experimenta un descenso en la densidad mitocondrial, lo que conlleva una menor

eficiencia en la capacidad oxidativa del mismo y sufre adaptaciones metabólicas, como un descenso en la sensibilidad a la insulina (38). La reducida función mitocondrial en el músculo esquelético implica modificaciones en diversos sistemas enzimáticos (Citocromo C, Citrato Sintasa, Carnitina Palmitoil transferasa, Hexoquinasa, etc.), hecho que se asocia en la actualidad a la aparición de diabetes tipo 2. Como constatación de esta afirmación se observa que la capacidad para oxidar ácidos grasos de los individuos obesos está claramente mermada.

ALMACENAMIENTO Y FLUJO DE ENERGÍA. CONSERVACIÓN DE LA GLUCOSA. ADAPTACION A LA ACTIVIDAD FÍSICA

Nuestras rutas metabólicas y las vías moleculares de señalización, que fueron seleccionadas hace miles de años, requieren el establecimiento de flujos energéticos de almacenamiento y consumo para funcionar con normalidad. Si no se supera un umbral mínimo de ejercicio físico, como sucede en situaciones de inactividad, el equilibrio se descompensa ya que la frecuencia de estos ciclos energéticos disminuye (Figura 5).

Un concepto llamativo en términos de almacenamiento de energía es la escasez de reservas de carbohidratos presentes en el organismo, inferiores a las demandas energéticas diarias en reposo, unas 900 kcal en comparación con las 120.000 kcal almacenadas en forma de triglicéridos. Una posible explicación a este hecho podría ser que el polímero de glucógeno (estructura de almacenamiento de los carbohidratos) es una molécula de elevado peso ya que porta moléculas de agua en su estructura. Así, resultaría más sencillo acumular triglicéridos con alto contenido calórico y un peso inferior. Esa pequeña cantidad de glucógeno almacenada en el músculo esquelético, es una fuente calórica fundamental de rápido consumo durante la ejecución de ejercicios aeróbicos de alta intensidad, de modo que sufre continuos ciclos de consumo-reposición.

Los genes que codifican para las enzimas participantes en el metabolismo del glucógeno son fuertes candidatos a genes ahorradores. Recientes estudios muestran como la ejecución de ejercicio cuando las reservas musculares de glucógeno son bajas, dispara la activación de IL-6, de la Piruvato Deshidrogenasa quinasa, de la Hexoquinasa y de la proteína de choque térmico-72. Además, la inhibición de la reposición de glucógeno después del ejercicio (con una dieta libre de carbohidratos), promueve una tasa de transcripción elevada para GLUT4.

¿Qué sucede con la toma de glucosa cuando realizamos actividad física? La contracción muscular regula de forma local la toma de glucosa, de modo que,

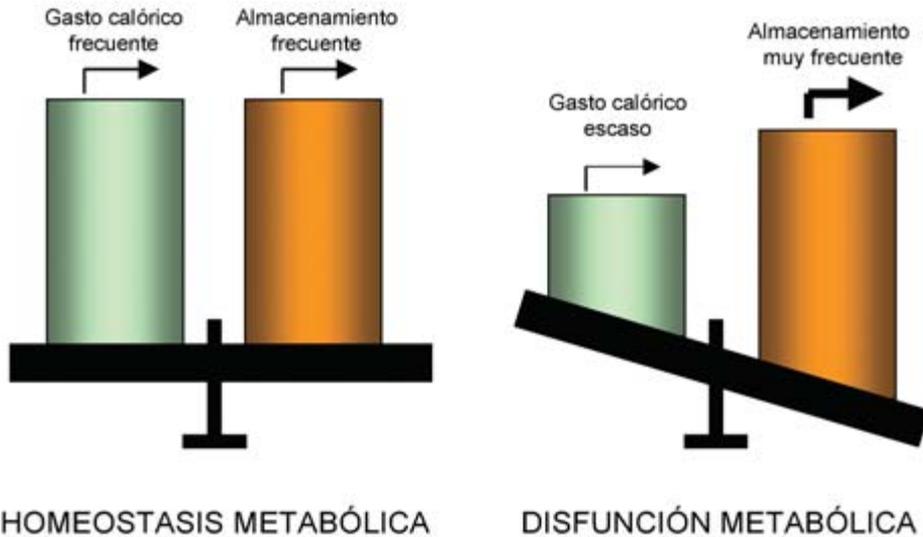


FIGURA 5. En la figura se representa de forma esquemática las interacciones entre el grado de actividad física, o inactividad, la expresión de genes específicos y el impacto sobre las funciones metabólicas. La figura de la izquierda representa una situación de balance metabólica, en unas condiciones de actividad física diaria (como aquellas en las que se seleccionaron nuestros genes metabólicos hace miles de años). La figura de la derecha muestra el desequilibrio originado por una situación de inactividad física, que influye la expresión génica promoviendo la aparición de disfunciones metabólicas.

siguiendo una ruta independiente a la estimulada por la insulina, es capaz de promover la traslocación de GLUT4 a membrana plasmática para favorecer la captación de glucosa (39). Finalizado el ejercicio y con el propósito de reponer los depósitos de glucógeno, los niveles de insulina aumentan. Una vez que las reservas se han restaurado, estos niveles de insulina descienden, lo cual conserva la glucosa para que el sistema nervioso central funcione correctamente. Desde un punto de vista evolutivo, durante cientos de miles de años la disponibilidad de alimento era incierta, esporádica, con lo que las reservas de glucosa se veían limitadas y de alguna manera, la presión selectiva promovió el desarrollo de sistemas que permitieran conservar la glucosa y que respondieran a los niveles de actividad física. De hecho, el aumento en la sensibilidad a insulina experimentada tras la ejecución de un ejercicio físico retorna a los niveles de reposo tan solo 38-60 horas después de la finalización del mismo (40). Así, la supervivencia de nuestros antepasados durante miles de años en un ambiente autosuficiente no solo seleccionó las rutas metabólicas actuales, sino que optimizó a su vez los mecanismos de señalización, como la traslocación de GLUT4

y la sensibilidad a la insulina, para que se expresaran de forma cíclica ante las fluctuaciones en la disponibilidad de alimento y la actividad física. De este modo, los ciclos metabólicos soportaban las variaciones entre épocas de alimento-hambruna, actividad física-descanso (41).

Además de las vías citadas a través de las cuales el organismo se abastece de glucosa, en el músculo existen otras que permiten la obtención de esta molécula energética en periodos de ayuno, cuando no existe un aporte externo. A través de la gluconeogénesis, los aminoácidos liberados desde el músculo en situaciones de ayuno prolongado, pueden ser utilizados como sustrato por enzimas específicas para la producción de glucosa. Tras un periodo de carencia resulta esencial que el músculo se recupere, creciendo de nuevo, con lo que a lo largo de la vida el organismo puede experimentar varios ciclos de atrofia-hipertrofia.

La conservación de la glucosa como sustrato energético es un hecho más que probado. Ya en la década de los 60, los investigadores Christensen y Hansen observaron que aquellos individuos entrenados físicamente obtenían la mayor parte de la energía en el ejercicio de la oxidación de ácidos grasos, en mayor medida que de los carbohidratos (42). Estos individuos que realizan actividad física regular se asemejarían a nuestros antepasados cazadores-recolectores los cuales reservaban el uso de la glucosa durante el ejercicio, obteniendo el aporte energético principal de los acúmulos de grasa, en prevención de una posible época de carencia posterior.

En la actualidad, el sedentarismo, la falta de práctica de ejercicio físico y una alimentación poco adecuada, se asocia a la aparición de inadaptaciones que con frecuencia de manifiestan a nivel muscular en individuos obesos y otros con diabetes tipo 2: escasa capacidad para oxidar ácidos grasos, baja densidad de mitocondrias, poca flexibilidad metabólica y resistencia a la insulina. Además, los pacientes con resistencia a insulina y diabetes tipo 2 presentan atrofiada la síntesis de glucógeno estimulada por insulina, probablemente debido a que la insulina es incapaz de estimular a la enzima clave en el proceso de síntesis de glucógeno, la glucógeno sintasa, por lo que se ha postulado que éste defecto pueda ser relevante en el desarrollo de la patología.

MECANISMOS MOLECULARES QUE SENSIBILIZAN A LA INSULINA EN EL MÚSCULO EN EJERCICIO

Diversos estudios han comprobado que la actividad física promueve adaptaciones de índole diversa en la fibra muscular. Así, se puede apreciar una mayor vascularización, se incrementan los transportadores de glucosa o GLUT4, la

densidad mitocondrial es mayor, se potencia la actividad de la lipasa sensible a hormona, el tamaño de los depósitos de glucógeno se ve incrementado, etc. Estos mecanismos de adaptación conllevan a su vez un aumento en la actividad de la LPL (lipoproteína lipasa) y de todas las enzimas mitocondriales y citoplasmáticas encargadas del metabolismo del glucógeno y de los ácidos grasos. Todos estos eventos tienen una consecuencia evidente sobre la cascada de señalización iniciada por la insulina, ya que ésta se ve favorecida con la irrigación del tejido muscular, del contenido de los depósitos de glucógeno, de la presencia de DAG y ceramidas intracelulares y con la capacidad oxidativa mitocondrial. Finalmente, estos acontecimientos promueven una mayor sensibilidad a la insulina. Aún se desconoce el mecanismo molecular exacto gracias al cual todos estos efectos se manifiestan, aunque se sabe que el ejercicio actuaría como desencadenante de distintas vías de señalización en el músculo.

Existen diversos estudios que sugieren que una ruta importante en la señalización mediada por el ejercicio estaría constituida por la vía de señalización de las MAPK. Muchos de los componentes de esta vía se ven estimulados por la actividad contráctil, aunque su sentido fisiológico no es conocido. Diversos estudios muestran evidencias que apuntan que p38 podría estar implicado en el incremento en la toma de glucosa asociada al ejercicio (43).

Un punto clave en el entendimiento de las distintas respuestas metabólicas en el músculo en ejercicio, se centra en la acción de la quinasa AMPK, o la quinasa reguladora del metabolismo energético. La enzima AMPK es sensible a la variación en el estatus energético celular, de modo que puede verse activada en situaciones de contracción muscular, hipoxia, isquemia, inhibición de la glucólisis, choque térmico, etc. Su implicación en los mecanismos de captación de glucosa ha sido probada mediante estudios *in vitro*, de modo que su actividad cursa independiente de la estimulación con insulina. Existe una variedad de factores que condicionan en cierta medida la magnitud de la acción de esta enzima, como son el contenido de glucógeno, el grado de entrenamiento del músculo y del tipo de fibras musculares que lo componen.

La activación de esta enzima requiere la fosforilación de una o varias de sus subunidades. Dicha fosforilación se ve desencadena ante las variaciones en la relación entre AMP/ATP y de la relación creatina/fosfocreatina propias de la contracción muscular de media a alta intensidad así como por otros fenómenos propios de la contracción muscular, como una disminución en el pH, la inhibición de la glicólisis, isquemia, etc. Durante el ejercicio la actividad de AMPK se incrementa de forma proporcional a la intensidad del mismo (44). Otros autores proponen la existencia de un mecanismo «interruptor» que activaría AMPK

o AKT en función de la intensidad del ejercicio, de modo que los estímulos de baja y media intensidad promoverían la activación de AMPK, mientras que los de alta intensidad activarían AKT (45)., mientras que los de alta frecuencia activaban la fosforilación de AKT. Este mecanismo «interruptor» AMPK-AKT podría mediar parcialmente las adaptaciones específicas ante ejercicios de entrenamiento y de resistencia, respectivamente.

La activación de AMPK parece seguir una vía independiente de la insulina ya que en sujetos diabéticos la contracción muscular activa AMPK al igual que en sujetos controles (46). Así, la alternativa para normalizar la glucemia de estos pacientes podría venir de la estimulación de la vía AMPK. El papel relevante del AMPK en la activación de las vesículas de GLUT4 queda patente mediante el uso de inhibidores del mismo en estudios *in vitro*, los cuales anulan su efecto sobre los transportadores GLUT 4 y por ende sobre la captación de glucosa.

Otros papeles se han atribuido a esta proteína en términos referidos al metabolismo del glucógeno. Los experimentos realizados *in vitro* indican que AMPK puede fosforilar a enzimas propias del metabolismo del glucógeno, como la glucógeno sitasa o la fosforilasa quinasa, inhibiendo con ello la síntesis de glucógeno (47). Si bien, los estudios realizados en modelos *in vivo*, parecen apuntar a una acción indirecta del AMPK sobre el metabolismo del glucógeno.

Otra función relevante del AMPK se centra en su papel en el metabolismo de los ácidos grasos, facilitando su oxidación. El AMPK tiene un rol directo en la variación de los niveles de Malonil CoA, el cual provoca la inhibición de CPT1 (transportador de ácidos grasos al interior de la mitocondria). Finalmente, ciertas isoformas de AMPK pueden participar en mecanismos de transcripción génica, de modo que pueden incrementar la expresión de genes que codifican para GLUT4 y la enzima Hexoquinasa (48).

Por otra parte, el músculo en ejercicio secreta una serie de factores que actúan a distintos niveles en los procesos de señalización dentro de la célula. Los niveles plasmáticos de la citoquina IL-6, por ejemplo, se ven notablemente incrementados después del ejercicio, hecho que repercute en el metabolismo y en la homeostasis de la glucosa a nivel corporal. Como se ha citado anteriormente, nuestro grupo ha desarrollado un trabajo de reciente publicación, que se centra en el impacto de la IL-6 sobre la sensibilidad a insulina, en función a la duración del tratamiento (24). El tratamiento a corto plazo promueve un incremento en la toma de glucosa de modo similar a la situación que se desarrolla en el entorno fisiológico después del ejercicio físico.

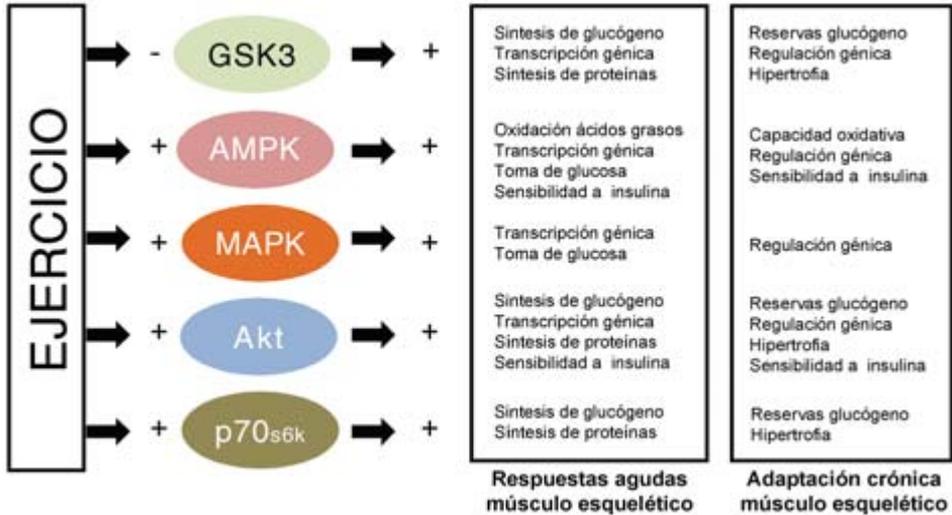


FIGURA 6. El ejercicio regula distintas vías de señalización intracelular en el músculo esquelético. (+) regulación positiva (-) regulación negativa.

Además de las citadas, existen otra serie de rutas de señalización en el músculo en el ejercicio, como la ruta PI3K-AKT, la ruta del GSK3 (quinasa de la glucógeno sintasa), la ruta de p70^{s6k}, etc., todas ellas contribuyendo a los efectos fisiológicos que se ponen de manifiesto en el ejercicio (Figura 6).

Este conjunto de variables adaptativas o modificables con el ejercicio, permiten de manera directa e indirecta corregir dislipidemias, hipertrigliceridemias, hiperglicemias, hiperinsulinemias, hipertensión arterial, grasa visceral y estas a su vez inciden en la prevención y terapia de la insulina resistencia y de la diabetes tipo 2.

PLAN PARA COMBATIR LA OBESIDAD Y LOS DESÓRDENES ASOCIADOS: ESTRATEGIA NAOS

La obesidad ha sido descrita según la OMS como la enfermedad metabólica multifactorial más prevalente en los países desarrollados, llegando a considerarse la epidemia del siglo XXI. El panorama actual en España es especialmente desolador en lo que a la población infantil se refiere, ya que la obesidad se incrementa de forma alarmante cada año (en la actualidad más de un 14% de la población).

En el año 2005 se puso en marcha la Estrategia NAOS (Estrategia para la Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad) desde el Ministerio de Sanidad y Consumo, a través de la AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición), con el objetivo de sensibilizar a la población del problema que la obesidad representa para la salud, y de impulsar todas las iniciativas que contribuyan a lograr que los ciudadanos, y especialmente los niños y los jóvenes, adopten hábitos de vida saludables, principalmente a través de una alimentación saludable y de la práctica regular de actividad física. La Estrategia NAOS pretende servir como plataforma de todas las acciones que ayuden a la consecución de dicho objetivo, integrando los esfuerzos y la participación más amplia posible de todos los componentes de la sociedad, Administraciones Públicas, expertos en el tema, empresas del sector privado, consumidores, y toda la población. De este modo, los ámbitos y los campos de actuación e influencia de la Estrategia NAOS son múltiples: la familia, el entorno escolar, el mundo empresarial y el sistema sanitario. (<http://www.naos.aesan.msc.es>)

AGRADECIMIENTOS

* María Alonso-Chamorro e Irid Nieto-Vázquez han contribuido como co-autoras en la realización de este capítulo.

Agradecemos la financiación de los proyectos BFU-2005-03054 y BFU2008-04043 del Ministerio de Ciencia e Innovación; S-SAL-0159-2006 de la Comunidad de Madrid y CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas del ISCIII. También agradecemos el apoyo de la Comisión Europea a través de COST Action BM0602.

ABREVIATURAS

ACC, acetil CoA carboxilasa; AICAR, aminoimidazol carboxamida ribonucleotido; AMPK, proteína quinasa dependiente de AMP; CPT, carnitil palmitil transferasa; DAG, diacilglicerol; GSK, glucógeno sintasa quinasa; IKK, quinasa del inhibidor de NF- κ B; IL, interleuquina ; IR, receptor de insulina; IRS, sustrato del receptor de insulina; JNK, c-Jun N-terminal quinasa; LPL, lipoproteína lipasa; LXR, liver X receptor; MAPK, proteínas quinasas activadas por mitógenos; NAOS, Estrategia para la Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad; OMS, Organización Mundial de la Salud; PI3-K, fosfatidilinositol 3-quinasa ; PKC, proteína quinasa C; PTP, proteína tirosina fosfatasa; PPAR, receptor activado por proliferadores peroximales; RAR, Retinoic Acid Receptor; RXR, Retinoic X Receptor; SOCS, proteínas supresoras de la señalización de citoquinas; TNF, factor de necrosis tumoral; TZD, tiazolidindionas; UCP, proteínas desacoplantes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lizcano, J.M. y Alessi, D. R. (2002) The insulin signalling pathway. *Curr.Biol.*, **12**:R236-R238.
2. Karlsson HK, Zierath JR. (2006) Insulin signaling and glucose transport in insulin resistant human skeletal muscle. *Cell Biochem Biophys.* **48**:103-113.
3. Krook, A., Bjornholm, M., Galuska, D., Jiang, X. J., Fahlman, R., Myers, M. G., Jr., Wallberg-Henriksson, H., y Zierath, J. R. (2000) Characterization of signal transduction and glucose transport in skeletal muscle from type 2 diabetic patients. *Diabetes*, **49**:284-292.
4. Nieto-Vazquez I, Fernández-Veledo S, Krämer DK, Vila-Bedmar R, Garcia-Guerra L, Lorenzo M. (2008) Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch Physiol Biochem*: **114**:183-94.
5. Brozinick, J.T., Jr., Roberts, B. R., y 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.
6. Vollenweider, P., Menard, B., y 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.
7. Itani, S.I., Pories, W. J., Macdonald, K. G., y Dohm, G. L. (2001) Increased protein kinase C theta in skeletal muscle of diabetic patients. *Metabolism*, **50**:553-557.
8. 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., y Kennedy, B. P. (1999) Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. *Science*, **283**:1544-1548.
9. Klamann, 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., y 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.
10. Musi, N. y Goodyear, L. J. (2003) AMP-activated protein kinase and muscle glucose uptake. *Acta Physiol Scand.*, **178**:337-345.
11. Glund S, Treebak JT, Long YC, Barres R, Viollet B, Wojtaszewski JF, Zierath JR. (2008) Role of AMPK in IL-6 release from isolated mouse skeletal muscle. *Endocrinology* (in press).

12. Holst, D. y Grimaldi, P. A. (2002) New factors in the regulation of adipose differentiation and metabolism. *Curr.Opin.Lipidol.*, **13**:241-245.
13. Fernández-Veledo S, Nieto-Vazquez I, de Castro J, Ramos MP, Brüderlein S, Möller P, Lorenzo M. (2008) Hyperinsulinemia induces insulin resistance on glucose and lipid metabolism in a human adipocytic cell line: paracrine interaction with myocytes. *J Clin Endocrinol Metab.* **93**:2866-76.
14. Ruan, H., Miles, P. D., Ladd, C. M., Ross, K., Golub, T. R., Olefsky, J. M., y 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.
15. Boden, G. y 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.
16. Fernandez-Veledo,S., Nieto-Vazquez,I., Rondinone,C.M., and Lorenzo, M. (2006). Liver X receptor agonists ameliorate TNFalpha-induced insulin resistance in murine brown adipocytes by downregulating protein tyrosine phosphatase-1B gene expression. *Diabetologia* **49**, 3038-3048.
17. Nieto-Vazquez, I., Fernandez-Veledo,S., de Alvaro,C., Rondinone,C.M., Valverde, A.M., y Lorenzo, M. (2007). Protein-Tyrosine Phosphatase 1B-Deficient Myocytes Show Increased Insulin Sensitivity and Protection Against Tumor Necrosis Factor-{alpha}-Induced Insulin Resistance. *Diabetes* **56**, 404-413.
18. Lorenzo M, Fernández-Veledo S, Vila-Bedmar R, Garcia-Guerra L, De Alvaro C, y Nieto-Vazquez I. (2008). Insulin resistance by tumor necrosis factor- α in myocytes and brown adipocytes. *Journal of animal Science*: **86(14 Suppl)**: E94-104.
19. De Alvaro, C., Teruel,T., Hernandez, R., y Lorenzo,M. (2004). Tumor necrosis factor alpha produces insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor kappaB kinase in a p38 MAPK-dependent manner. *J. Biol. Chem.* **279**, 17070-17078.
20. Plomgaard, P, Bouzakri, K, Krogh-Madsen, R, Mittendorfer, B, Zierath, JR, y Pedersen, BK (2005) Tumor necrosis factor-alpha induces skeletal muscle insulin resistance in healthy human subjects via inhibition of Akt substrate 160 phosphorylation. *Diabetes* **54**:2939-2945.
21. Bruce, C.R. y Dyck, D. J. (2004) Cytokine regulation of skeletal muscle fatty acid metabolism: effect of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab*, **287**:E616-E621.
22. Febbraio MA, y Pedersen BK. (2005) Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ? *Exerc Sport Sci Rev*; **33**:114-9.

23. Rieusset J, Bouzakri K, Chevillotte E, Ricard N, Jacquet D, Bastard JP, Laville M, Vidal H. (2004) Suppressor of cytokine signaling 3 expression and insulin resistance in skeletal muscle of obese and type 2 diabetic patients. *Diabetes*; **53**:2232-41.
24. Nieto-Vazquez I, Fernández-Veledo S, de Alvaro C, Lorenzo M. (2008). Dual role of interleukin-6 in regulating insulin sensitivity in murine skeletal muscle. *Diabetes* (in press).
25. Kelly M, Keller C, Avilucea PR, Keller P, Luo Z, Xiang X, Giralt M, Hidalgo J, Saha AK, Pedersen BK, y Ruderman NB. (2004) AMPK activity is diminished in tissues of IL-6 knockout mice: the effect of exercise. *Biochem Biophys Res Commun*; **320**:449-54.
26. Diradourian, C., Girard, J. y Pegorier, J. P. (2005) Phosphorylation of PPARs: from molecular characterization to physiological relevance. *Biochimie*; **87**: 33-8.
27. Arner, P. (2003) The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol.Metab* **14**, 137-145.
28. Lessard, S. J., Chen, Z. P., Watt, M. J., Hashem, M., Reid, J. J., Febbraio, M. A., Kemp, B. E., y Hawley, J. A. (2006) Chronic rosiglitazone treatment restores AMP-Kalpha2 activity in insulin-resistant rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **290**: p. E251-7.
29. 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., y 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**: 15924-5929.
30. Laffitte BA, Chao LC, Li J, Walczak R, Hummasti S, Joseph SB, Castrillo A, Wilpitz DC, Mangelsdorf DJ, Collins JL, Saez E, Tontonoz 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.
31. Villarroya F, Iglesias R, 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.
32. Katzmarzyk PT, Janssen I (2004) The economic costs associated with physical inactivity and obesity in Canada: an update. *Can J Appl Physiol* **29**, 90-115.
33. Adolph EF (2006) Perspectives of adaptation: some general properties. In: *American Physiological Society*, **1964**, 27-35.

34. Holloszy JO (1967) Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem* **242**, 2278-2282.
35. Neel JV (1962) Diabetes mellitus a «thrifty» genotype rendered detrimental by «progress»? *Am J Hum Genet* **14**, 352-353.
36. Koch LG, Britton SL (2001) Artificial selection for intrinsic aerobic endurance running capacity in rats. *Physiol Genomics* **5**, 45-52.
37. Wisloff U, Najjar SM, Ellingsen O, Haram PM, Swoap S, Al-Share Q, Fernstrom M, Rezaei K, Lee SJ, Koch LG, Britton SL (2005) Cardiovascular risk factors emerge after artificial selection for low aerobic capacity. *Science* **307**, 418-420
38. Burstein R, Polychronakos C, Toews CJ, MacDougall JD, Guyda HJ, Posner BI. Acute reversal of the enhanced insulin action in trained athletes (1985) Association with insulin receptor changes. *Diabetes* **34**,756-760.
39. Holloszy JO (2005) Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. *J Appl Physiol* **99**, 338-343.
40. Kump DS, Booth FW (2005) Alterations in insulin receptor signalling in the rat epitrochlearis muscle upon cessation of voluntary exercise. *J Physiol* **562**, 829-838
41. Chakravarthy MV, Booth FW (2004) Eating, exercise, and «thrifty» genotypes: connecting the dots toward an evolutionary understanding of modern chronic diseases. *J Appl Physiol* **96**, 3-10.
42. Saltin B, Karlsson J (1971) Muscle glycogen utilization during work of different intensities. In: *Muscle Metabolism During Exercise*, edited by Pernow B and Saltin B. New York: Plenum, 289-299.
43. Somwar R, Perreault M, Kapur S, Taha C, Sweeney G, Ramlal T, Kim DY, Keen J, Cote CH, Klip A, Marette A (2000) Activation of p38 mitogen-activated protein kinase α and β by insulin and contraction in rat skeletal muscle: potential role in the stimulation of glucose transport. *Diabetes* **49**, 1794-1800.
44. Chen, Z P, McConnell,G K (2000) AMPK signal in contracting human skeletal muscle: A CoA carboxylase and NO synthase phosphorylation. *Am J. Physiol* E1202-E1206.
45. Atherton P J, Babraj J A, Smith K, Singh J, Rennie M J, Wackerhage H (2005) Selective activation of AMPK-PGC 1 α or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain specific adaptative responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation. *FASEB J* **19**, 786-788.
46. Musi N, Fujii N (2001) AMPK is activated in muscle of subjects with type 2 diabetes during exercise. *Diabetes* **50**, 921-927.

47. Carling D y Hardie DG (1989) The substrate and sequence specificity of the AMP-activated protein kinase. Phosphorylation of glycogen synthase and phosphorylase kinase. *Biochim Biophys Acta* **1012**, 81-86
48. Bodine SC, Stitt TN, Gonzalez M, Kine WO, Stover GL, Bauerlein R, Zlotchenko E, Scrimgeour A, Lawrence JC, Glass DJ, Yancopoulos GD (2001) Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nat Cell Biol* **3**, 1014-1019.