PATOLOGÍAS ASOCIADAS LA OBESIDAD. SÍNDROME METABÓLICO Y DIABETES MELLITUS TIPO 2

Manuel R Benito de las Heras

Introducción

El denominado síndrome metabólico incluye un grupo de anormalidades tales como la diabetes mellitus, la obesidad, dislipemia e hipertensión, todas ellas factores de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular, y enfermedad renal crónica. Se han identificado seis componentes del síndrome metabólico que se relacionan con la enfermedad cardiovascular: obesidad abdominal, dislipemia aterogénica, hipertensión, resistencia a la insulina/intolerancia a la glucosa y el estado proinflamatorio y protrombótico. Un problema de esta definición se presenta al aplicarla a diferentes grupos étnicos especialmente cuando los límites de la obesidad no han sido definidos. Esto es evidente, el riesgo de diabetes tipo 2 es menor entre los asiáticos que entre los caucásicos. La Federación Internacional de Diabetes ha propuesto una nueva serie de criterios con límites específicos étnico/raciales. La característica central del síndrome tóxico es la obesidad, una epidemia cada vez mayor en todo el mundo. Aproximadamente un adulto de cada 5 padece el SM. La incidencia crece con la edad y se estima que en la población de más de 50 años el 40% de la población en estados Unidos y el 30% en Europa la padecen. Si los efectos del SM se deben a la suma de comorbilidades o a características individuales, es todavía material de debate; sin embargo, existen datos suficientes que apoyan un riesgo elevado de enfermedad cardiovascular en la población afectada por el SM en ausencia de otros factores de riesgo. La obesidad central es un factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular y se asocia al SM. La obesidad central predispone a la

nefropatía diabética, a la nefroesclerosis hipertensiva, a la glomeruloesclerosis focal segmental y representa un factor de riesgo independiente para la progresión y desarrollo de la enfermedad cardiovascular. La obesidad y el desarrollo de la resistencia a la insulina se cree que son una característica central que contribuye a la morbilidad y mortalidad asociada con el SM y el desarrollo de una forma particular resistente de hipertensión. El desarrollo de hipertensión resistente en pacientes con SM puede atribuirse a un número de factores entre los que se incluyen las citoquinas proinflamatorias, la activación inapropiada del sistema renina-angiotensina, vasoconstricción procedente de la activación incrementada del sistema nervioso simpático y alteración en la producción y secreción de adipoquinas . Algunos componentes del SM se asocian con marcadores directos o indirectos de la activación adrenérgica. Esta revisión se enfocará hacia los conocimientos actuales de los mecanismos mediante los cuales la sobreactividad del simpático puede relacionarse con el SM con particular referencia al papel de la resistencia a la insulina (RI).

Fisiopatología del Síndrome Metabólico

En 1988 Raven postuló por primera vez el "Síndrome X" ahora denominado Síndrome Metabólico (SM). Raven observó la asociación frecuente de factores que conducían al desarrollo de la enfermedad cardiovascular: intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, triacilglicéridos séricos elevados, lipoproteínas de alta densidad disminuidas, e hipertensión. La resistencia a la insulina fue propuesta como la "fuerza conductora" del síndrome. Posteriormente fueron añadidas otras patologías a la definición del SM, tales como estados protrombóticos y proinflamatorios. Fue aún más tarde cuando la obesidad abdominal llego a ser considerada como el núcleo del síndrome. Como las patologías metabólicas asociadas a la resistencia a la insulina se encuentran generalmente en pacientes con obesidad abdominal la resistencia a la insulina se considera, a su vez, el núcleo del SM y la obesidad central es la pista clínica más importante.

La diabetes tipo 2 es una enfermedad metabólica compleja de naturaleza poligénica, con un componente medio ambiental, la cual se caracteriza por una hiperglucemia resultante de una inadecuada actividad de la insulina, que se desencadena cuando la secreción de insulina por parte del páncreas no puede compensar la resistencia a la misma

en los tejidos periféricos. De hecho, la resistencia la insulina es la característica fisiopatológica más importante en muchos estados prediabéticos, y es un componente clave junto con la hipertensión arterial, la hiperlipemia, la hiperglucemia, la obesidad y la diabetes tipo-II del SM o síndrome de resistencia a la insulina. Dicha enfermedad metabólica constituye una auténtica epidemia en los albores del tercer milenio, pudiendo afectar a más del 20% de la población mundial, con el resultado clínico final de daño cardiovascular. La patogénesis de la diabetes tipo-II implica, por tanto, defectos no solo en la acción periférica de la insulina sino también en la secreción de la misma por las células β pancreáticas. Esto es debido a que la resistencia a la insulina, causa primera del proceso diabético de tipo-2, tiende a ser compensada con el aumento de la secreción de la misma por parte del páncreas endocrino (hiperinsulinemia). Una moderada hiperinsulinemia puede ser tolerada durante un tiempo limitado. Sin embargo, la hipersinsulinemia crónica contribuye directamente al fracaso de la célula β pancreática y, por consiguiente, al desencadenamiento de la diabetes manifiesta. La manipulación genética de organismos vivos ha conseguido obtener modelos animales de diabetes tipo-2, los cuales han permitido identificar genes individuales que juegan un papel relevante en la señalización de la insulina implicada en la regulación de la homeostasia glucídica. De entre ellos, el desarrollo de ratones carentes del receptor de insulina, de manera tejido-especifica, ha sido especialmente significativa de cara al mejor entendimiento de la etiopatología de la diabetes tipo-2. Dichos modelos de ratón, han permitido establecer la acción específica de la insulina, la contribución de los diferentes tejidos objeto de estudio a la resistencia global a la insulina *in vivo* y finalmente, los mecanismos compensatorios desarrollados en cada caso.

Figura 1. Causas y consecuencias de la resistencoa a la insulina.

Órgano adiposo, obesidad y resistencia a la insulina

Ha sido en los últimos años cuando se ha reconocido que el tejido adiposo como una glándula endocrina y juega un papel fundamental en la homeostasis del organismo mediante una amplio intercambio de señales humorales entre los adipocitos y la mayoría de las células de otros órganos. En este sentido el tejido adiposo es fuente de muchas sustancias señalizadoras tales como citoquinas y quimioquinas, denominadas adipoquinas o adipocitoquinas, factores de crecimiento y proteínas del complemento, que se sintetizan y se expresan por los adipocitos. También un amplio número de agentes señalizadores, procedentes de células inmunocompetentes, como los macrófagos que residen en el propio tejido adiposo, se liberan localmente y en la circulación

La obesidad es un factor de riesgo bien establecido para desarrollar resistencia a la insulina. La obesidad se asocia con una deposición incrementada de lípidos en tejidos no adiposos lo que conlleva a una a una pérdida en la sensibliidad a la insulina. En la actualidad, los mecanismos mediante los cuales el incremento del acúmulo de grasa conduce a la resistencia a la insulina y al síndrome metabólico no están completamente esclarecidos.

La obesidad en grados avanzados puede establecer un estado de inflamación con la consiguiente producción de citoquinas inflamatorias que influyen negativamente sobre la

sensibilidad a la insulina. Esta teoría está apoyada, por estudios que muestran elevados niveles de las citoquinas proinflamatorias IL-6 and TNF-α en individuos con resistencia a la insulina y diabetes tipo 2. A su vez, otra teoría propone que la producción de hormonas por el tejido adiposo puede alterarse y originar una generación de adipoquinas que causan resistencia a la insulina.

Una tercera teoría examina la capacidad del tejido adiposo para almacenar grasas, y postula que esa capacidad tiene un límite, que cuando se sobrepasa, el exceso de lípidos sale al plasma, ocasionando niveles elevados de ácidos grasos y triacilglicéridos plasmáticos. Esto ocasiona una mayor incorporación de estas moléculas en tejidos no adiposos tales como el músculo esquelético y el hígado. El almacenamiento ectópico de lípidos en tejidos no adiposos es causa de alteraciones metabólicas vía toxicidad inducida por lípidos o lipotoxicidad, la cual puede también contribuir a la pérdida de las células β pancreáticas, fenómeno que ocurre durante el desarrollo de la diabetes tipo 2.

La hipótesis de la lipotoxicidad está apoyada por estudios en cultivos células en un medio que contiene un exceso de ácidos grasos saturados de cadena larga que forman complejos con albúmina sérica. En estos cultivos se induce la apoptosis de manera dependiente de la dosis, que a su vez se incrementa en medio rico en glucosa. Las evidencias que apoyan la teoría de la lipotoxicidad proceden de pacientes con lipodistrofia que tienen el tejido adiposo generalizado o que lo han perdido parcialmente, y que a pesar de presentar un acúmulo reducido de lípidos padecen resistencia severa a la insulina, dislipidemia e hígado graso.

Sea cual sea el tipo de distribución de grasa, la mayor característica fisiopatológica en el paciente obeso es la *resistencia a la insulina*, que está presente en muchas de las comorbilidades metabólicas de la obesidad clínicamente relevantes (diabetes tipo 2, dislipemia, hiperuricemia), y no metabólicas (la hipertensión, la esteatohepatitis no alcohólica, apnea del sueño, enfermedad cardiovascular, fibrilación atrial, tromboembolismo pulmonar, osteoartritis y otras).

La insulina es una hormona peptídica sintetizada y secretada por las células β de los islotes de Langerhans pancreáticos, que juega un papel predominante en la regulación de la

homeostasis de la glucosa, mediante efectos coordinados sobre la estimulación de incorporación de la glucosa, su metabolismo y almacenamiento en determinados tejidos (Figura 2).

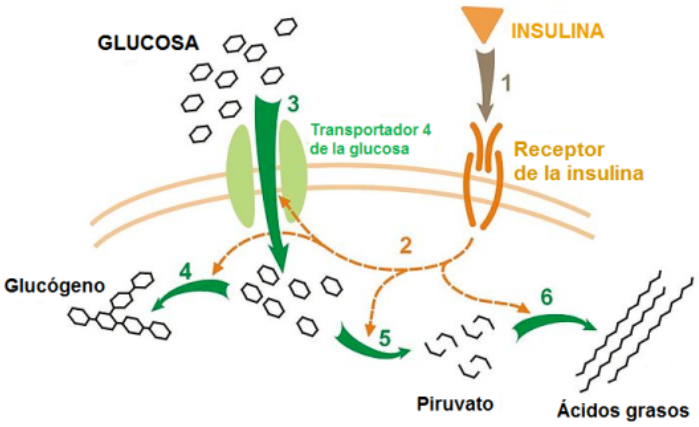

Figura 2. Múltiples funciones de la insulina. (1) La insulina se une a su receptor. (2) Activación del transportador de la glucosa (GLUT4). (3) Entrada de glucosa en la célula. (4) Síntesis de glucógeno. (5) Conversión de glucosa en piruvato. (6) lipogénesis de novo.

La insulina es también un regulador fundamental en virtualmente todos los aspectos de la biología de los adipocitos. Promueve la síntesis de triacilglicéridos, estimula la diferenciación de los preadipocitos, el transporte de glucosa, la lipogénesis e inhibe la lipolisis. La acción de la insulina comienza con la unión de la hormona a receptores específicos de la membrana en las células objetivo. Cuando la insulina se une a la subunidad α de su receptor se desencadena la autofosforilación de los residuos de tirosina de la subunidad β del receptor, que genera sitios de atraque para las proteínas sustrato del receptor de insulina (IRS-1–IRS4), que actúan como adaptadoras. La unión a estas proteínas IRS, desencadena la activación de una amplia gama de proteínas transductoras de señales.

Los IRS1-4 al unirse a la subunidad β autofosforilada del receptor de la insulina establecen una conexión entre el receptor de la superficie celular con las cascadas de señalización intracelulares. Los IRS juegan un papel clave en el funcionamiento de la insulina y el factor insulínico. Las proteínas IRS coordinan las señales desde el complejo insulina/receptor, con aquellas señales emitidas por las citoquinas proinflamatorias y los nutrientes. El ramal IRS2 de la cascada de señalización insulina/IGF tiene un papel

importante sobre la respuesta periférica a la insulina y el crecimiento y función y crecimiento de las células β pancreáticas. La alteración de la señalización mediada por el IRS2 causa el fallo de la hiperinsulimemia compensada durante la resistencia a la insulina. La señalización de la proteína IRS se inhibe por fosforilación de la serina y o degradación por el proteosoma, lo cual puede ser un mecanismo implicado en la resistencia a la insulina durante la lesión aguda o o estrés crónico asociado con la obesidad o el envejecimiento..

La resistencia a la acción de la insulina (respuesta menor a la hormona) en el músculo esquelético es uno de los primeros defectos detectables en los humanos con diabetes tipo 2. La obesidad es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de esta patología y concretamente los depósitos centrales de grasa (obesidad visceral) se han asociado con estas patologías.

El *órgano adiposo* está formado por varios depósitos de grasa que ejercen diferentes funciones fisiológicas e implicaciones fisiopatológicas, el tejido adiposo blanco y el tejido adiposo marrón. Actualmente está totalmente aceptado que el tejido adiposo blanco no es un mero almacén de energía y es considerado por todos como un órgano endocrino. Este tejido produce una gran variedad de adipoquinas y citoquinas que pueden actuar modulando la sensibilidad a insulina. La resistencia a la acción de la insulina en el músculo esquelético, tejido responsable del 80% del transporte de glucosa insulino-dependiente, es uno de los primeros defectos detectables en los humanos con la diabetes de tipo 2, siendo la obesidad, concretamente la visceral, el factor de riesgo más importante para el desarrollo de la misma. La obesidad se considera como un estado crónico de inflamación de baja intensidad, ya que en estas circunstancias, el perfil secretor de este tejido se encuentra alterado detectándose un incremento de citoquinas con actividad inflamatoria. Estas moléculas pueden ejercer efectos locales en la fisiología del propio tejido adiposo así como efectos potenciales sistémicos en otros órganos como el músculo esquelético, que culminarían en la aparición de resistencia a insulina. Por otro lado, el tejido adiposo marrón, debido a su capacidad para desacoplar la respiración mitocondrial, juega un importante papel en el balance energético. Alteraciones en este tejido se han relacionado con situaciones de resistencia a la insulina, obesidad y diabetes tipo 2, sugiriendo que podría participar en el mantenimiento del peso corporal en humanos (Figura 3).

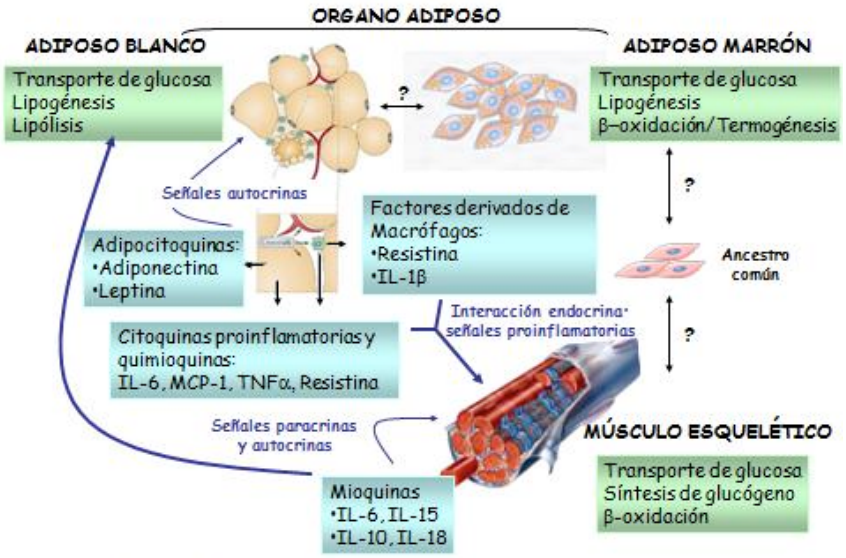

Figura 3. El órgano adiposo juega un papel fundamental en el desarrollo de la resistencia a la insulina. (Fernández Veledo 2010).

Una de las principales funciones de la insulina es la regulación de los niveles plasmáticos de glucosa, controlando la captación de la misma por los tejidos periféricos insulino-dependientes, fundamentalmente el músculo y el tejido adiposo, e inhibiendo su producción en el hígado. Estos tejidos captan la glucosa por transporte facilitado a través del transportador GLUT4, que en respuesta a la insulina se transloca a la membrana plasmática. De la compleja red de señalización por la que la insulina media sus acciones biológicas tras la unión a su receptor de membrana (IR) y activación por fosforilación en tirosina de los sustratos de los mismos (IRS), parece haber un amplio consenso sobre la implicación de la fosfatidilionositol 3-quinasa (PI3K) y por debajo de ésta, de la Ser/Treo quinasa AKT en la translocación de GLUT4. La regulación negativa de la cascada de señalización de la insulina es necesaria para terminar la transmisión de la señal y puede implicar varios niveles, como degradación vía proteosoma de los IRS, desfosforilación mediada por fosfatasas, así como fosforilación en serina/treonina de los IRS.

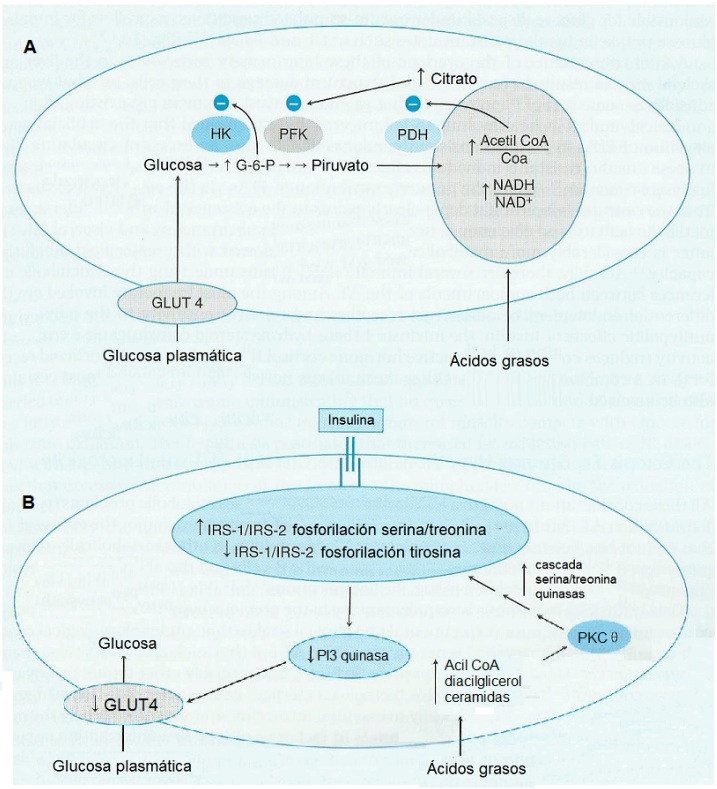

Figura 4. (A) Mecanismo mecanismo de resistencia a la insulina inducida por ácidos grasos en músculo esquelético. Un incremento en la concentración de ácidos grasos origina un elevación en acetilCoA/CoA y NADH/NAD$^+$, con la consiguiente inactivación de la piruvato deshidrogenasa (PDH). Esto causa una elevación en los niveles de citrato, que conduce a la inhibición de la fosfofructoquinasa (PFK). Posteriores incrementos en la concentración de glucosa-6-fosfato inhibirá la actividad hexoquinasa II y originará una elevación de glucosa y una disminución de su incorporación por el músculo. (B) Mecanismo alternativo propuesto para la resistencia a la insulina en músculo esquelético humano inducida por ácidos grasos. Un incremento en el envío de los ácidos grasos hacia el músculo o una dismiución en el metabolismo de los ácidos grasos conduce a un incremento de sus metabolitos, tales como diacilglicerol, acil CoA y ceramidas. Estos metabolitos activan la cascada de las serina/treonina quinasas y la fosforilación de los resíduos serina y treonina de los sustratos del receptor de la insulina (IRS1 e IRS2), lo cual a su vez reduce la capacidad de que los IRS activen la PI 3-quinasa . Como consecuencia disminuye el transporte de glucosa así como otros acontecimientos relacionadoos con la señalización de los IRS (Shulman 2000, modificado).

El grupo de investigación de Margarita Lorenzo lleva varios años trabajando en el conocimiento de las rutas de señalización de la insulina en el tejido adiposo y en el músculo esquelético, así como en los mecanismos moleculares implicados en la resistencia a la insulina asociada a la obesidad. Una de las principales hipótesis que conectan obesidad con la resistencia a la insulina y con la diabetes tipo 2 se centra en el papel endocrino del tejido adiposo. En este sentido, el perfil de secreción pro-inflamatorio característico en la obesidad favorecería la inhibición de la cascada de señalización de la insulina. En concreto, se ha propuesto al TNF-a y la IL-6 como el nexo de unión entre adiposidad y desarrollo de

resistencia a insulina. Este grupo ha comprobado que el TNF-a induce resistencia a insulina tanto en adipocitos como en células musculares por diversos mecanismos que impiden la señalización de la insulina a nivel de los IRS a través de la activación de quinasas proinflamatorias y de estrés, la producción de ceramidas, la activación de fosfatasas como la PTP1B o el incremento en la expresión de la proteína SOCS3. Además, otros estudios realizados con adipocitos humanos demuestran una respuesta diferencial a citoquinas proinflamatorias en función de su origen y que la hiperinsulinemia compensatoria característica de las etapas iniciales de la diabetes tipo 2, altera la función secretora del adipocito produciendo resistencia a insulina no sólo en la propia célula adiposa sino también en otros tejidos como el músculo esquelético.

La utilización de agonistas de receptores nucleares como terapia para el tratamiento de resistencia a insulina también ha sido objeto de estudio en nuestro grupo de investigación. En este se ha establecido la acción positiva de la rosiglitazona, agonista del receptor nuclear PPARγ, fármaco que se utiliza actualmente para el tratamiento de la diabetes tipo 2, sobre el metabolismo y la cascada de señalización de la insulina en los adipocitos marrones. También se han comprobado las propiedades antiinflamatorias de los agonistas de los LXR, que son capaces de revertir la resistencia a insulina sobre el transporte de glucosa en adipocitos y miocitos. Más recientemente, se ha explorado la posible reactivación de los adipocitos marrones presentes en los depósitos de grasa blanca como estrategia terapéutica para el tratamiento de la obesidad. En este sentido, la activación farmacológica de la quinasa AMPK, clave para el proceso de diferenciación del tejido adiposo marrón, produce un incremento en la presencia de adipocitos marrones en los depósitos de grasa blanca.

Especificidad tisular de la resistencia a la insulina

La cascada de señalización de la insulina/IGF-I juega un papel esencial, tanto en la regulación del crecimiento celular a lo largo del desarrollo, así como en la regulación

del metabolismo intermediario implicado en el almacenamiento y liberación de la energía en los tejidos. Los sustratos del receptor de la insulina 1(IRS-1) y 2 (IRS-2) son

mediadores clave de la acción tisular de la insulina, especialmente en lo que a su crecimiento y metabolismo glucidico se refiere.

La insulina desencadena una cascada de activación de quinasas celulares que median la acción transcripcional y postranscripcional de la misma en el hígado y en los tejidos extrahepáticos. La cascada se inicia con la autofosforilación del receptor de la insulina tras la unión de la insulina, la cual desencadena la fosforilación en tirosina de los IRS. Los IRS fosforilados unen proteínas con dominios SH2, tales como la subunidad reguladora p85 del complejo enzimático fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K), un dímero formado por la subunidad catalítica p110 kDa y una subunidad reguladora de 50–, 55–, o 85 kDa, respectivamente. El complejo enzimático PI3K juega un papel central en la acción tisular de la insulina, pues su carencia en tejidos humanos y de modelos animales guarda una estrecha correlación con la resistencia a la insulina *in vivo*. Los productos de su reacción, el fosfatidil-inositol bifosfato (PIP2) y el fosfatidil-inositol trifosfofato (PIP3), se asocian a una serie de serina/treonina quinasas a la membrana celular, entre las que se encuentran las quinasas dependientes de fosfatidilinositoles tipo I (PDK1), y tipo 2 (PDK2), y al menos tres isoenzimas de la proteína quinasa B (AKT).

La AKT fosfórila en serinas y /o treoninas una serie de sustratos tales como la proteína BAD (implicada en muerte celular), la glucógeno sintasa quinasa 3b (GSK3b) (reguladora del crecimiento celular y de la síntesis de glucógeno) y el factor transcripcional «forkhead» Foxo1 (implicado en muerte celular y en la regulación del metabolismo glucídico). La insulina/IGF-I regulan la transcripción celular fundamentalmente a través de dos rutas de transducción de señales: la ruta ras/p42/p44 MAPK que regula la expresión de los factores transcripcionales Elk1 y fos implicados en la regulación positiva del ciclo celular, y la ruta PI3K/AKT que regula los factores transcripcionales Foxo implicados en la regulación negativa del metabolismo glucídico.

Esta señalización es particularmente relevante en relación con la regulación del metabolismo glucídico hepático, a través de la activación de la síntesis de glucógeno y de la inhibición de la gluconeogénesis. En efecto, un mecanismo por el que la insulina inhibe la glucogenolisis hepática es a través de la activación de la glucógeno sintasa (GS) y por

consiguiente de la síntesis del glucógeno. Este efecto de la insulina está mediado por la activación de la AKT, la cual fosforila e inactiva a la GSK3b, con el resultado de la activación de la GS en estado desfosforilado.

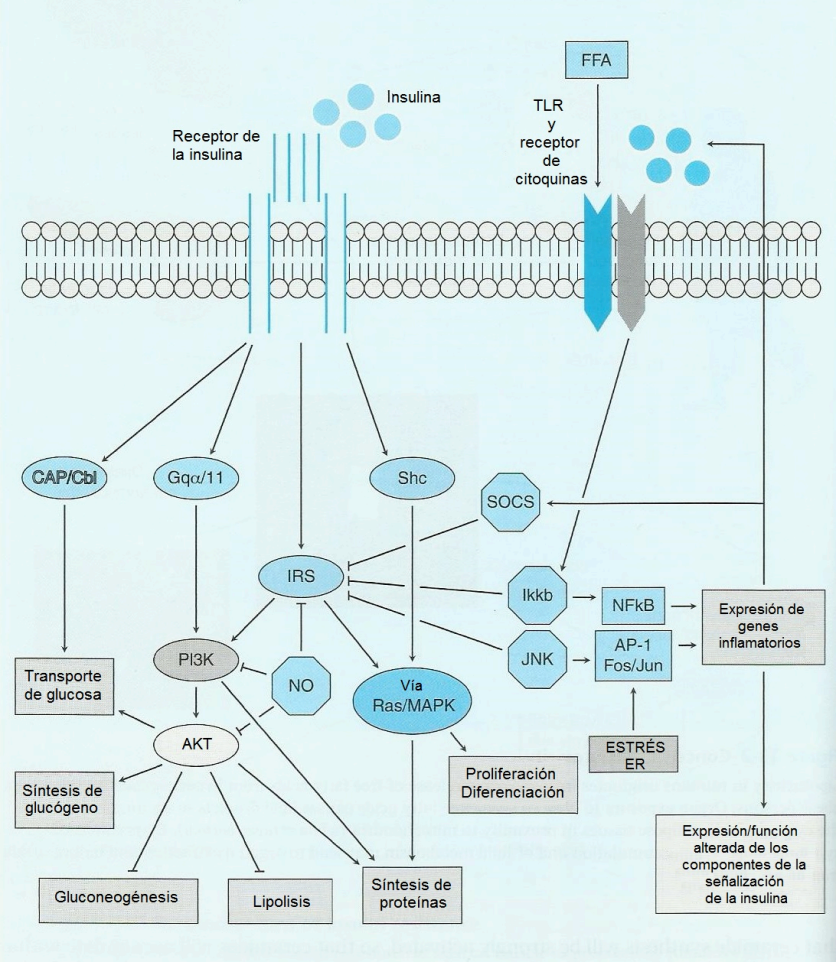

Figura 5. Interacción directa de la señalización de la insulina con las vías inflamatorias. La cascada señalizadora de la insulina se ramifica en dos vías. La vía PI3K/AKT media el efecto de la insulina sobre el metabolismo de nutrientes y la incorporación de glucosa. La Ras/MAPK media el efecto de la insulina sobre la expresión de genes, pero también interacciona con la vía PI3K/AKT para controlar el crecimiento y proliferación celular. La activación del receptor de la insulina conduce a la fosforilación en tirosina del IRS1, con lo que se inicia la transducción de señales. La estimulación de las vías inflamatorias NFκB y AP1 Fos/Jun origina la activación de serina quinasas, Ikkb y JnK1, que reducen la capacidad señalizadora de IRS1. Otros reguladores negativos de los IRS son las proteínas SOCS y el NO que se inducen en la inflamación y promueven la degradación de IRS. NO también reduce la actividad PI3K/AKT por nitrosilación de AKT ((De Luca y Olefsky 2008 modificado).

En relación con la gluconeogénesis hepática (producción de glucosa), la acción inhibidora de la insulina sobre la expresión y actividad de las enzimas gluconeogénicas, fosfoenolpiruvato quinasa (PEPCK) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6Pase) es dependiente de la actividad PI3K. Así, en condiciones basales, el factor transcripcional Foxo1 se localiza en el núcleo celular y se une a secuencias consenso del ADN, transactivando constitutivamente la expresión de genes tales como PEPCK, tirosina aminotransferasa (TAT) y G6Pasa.

En presencia de insulina, la proteína AKT se trasloca al núcleo y fosforila el factor Foxo1, el cual sale del núcleo, se acumula en el citoplasma, donde se degrada por el proteasoma. La inactivación de Foxo 1 por la insulina también promueve la supervivencia celular de los hepatocitos a través de la inhibición del gen proapoptótico ligando de Fas (Fas-L). La manipulación genética de los organismos, en relación con genes candidatos de resistencia a insulina, ha permitido obtener una serie de modelos murinos válidos para el estudio de la diabetes tipo-2.

La deleción de los sustratos del receptor de la insulina o de los IRS ha tenido una especial relevancia. Así, el ratón carente de IRS-1(IRS-1-/-) mostraba un severo retraso en el desarrollo. Además, dichos ratones mostraban resistencia a la insulina. Sin embargo, solo presentaban una ligera intolerancia a la glucosa. Por tanto, los ratones no mostraban un fenotipo diabético. El estudio del páncreas endocrino reveló que el ratón carente de IRS-1 desarrollaba una marcada hiperplasia de sus células β pancreáticas, responsable de los altos niveles de insulina circulantes (hiperinsulinemia). Dicho aumento en la secreción de insulina compensaba la resistencia a la misma a lo largo de toda la vida del animal. Esta acción remanente de la insulina en el ratón IRS-1-/- condujo al descubrimiento de un nuevo sustrato del receptor de la insulina, el IRS-2, como proteína alternativa de señalización de la insulina. Este nuevo sustrato jugaba un papel destacado en el hígado, ya que los ratones carentes de IRS-1 no desarrollaban resistencia hepática a la insulina. De esta forma, el IRS-1 regulaba la señalización de la insulina fundamentalmente en el músculo esquelético y en el tejido adiposo blanco, jugando un papel secundario en el hígado. Así, el IRS-2 podía compensar la carencia de IRS-1 más eficientemente en el hígado y en las células beta del páncreas, que en el músculo o en el tejido adiposo.

El ratón carente de IRS-2 (IRS-2-/-), desarrolla una severa diabetes a las 8-10 semanas en los machos y a las 25 semanas en las hembras. El fenotipo diabético guarda una estrecha relación con una severa hipoplasia de las células beta-pancreáticas. Estos resultados apuntaban hacia un papel crucial del IRS-2 en el desarrollo de los islotes en el páncreas. Sin embargo, los machos deficientes en IRS-2 desarrollaban una transitoria hiperinsulinemia antes de las 10 semanas de vida, lo cual sugería la aparición de una resistencia a la insulina muy temprana. De hecho, el ratón carente de IRS-2 desarrolla una severa resistencia hepática a la insulina, la cual no puede ser compensada por las células beta del páncreas.

Nuestro laboratorio ha contribuido a dilucidar el papel del IRS-2 en la señalización de la insulina en los hepatocitos. Así, el IRS- 2 en respuesta a la acción de la insulina señaliza a través de dos rutas divergentes: la ruta PI 3 quinasa/AKT y la ruta Grb2/ras/MAPK. En lo que se refiere a la ruta PI 3 quinasa/AKT, resulta crítica la producción de PIP3. En efecto, los hepatocitos carentes de IRS-2 pierden la señalización de AKT en respuesta a la insulina, siendo incapaces de generar PIP3 en respuesta a la insulina. La pérdida de señalización a través de la ruta PI 3 quinasa/AKT tiene importantes consecuencias metabólicas. Así, la proteína GSK3b no se fosforila en respuesta a la insulina, lo cual conlleva una pérdida del control de la síntesis del glucógeno por parte de la insulina. Igualmente, la proteína Foxo1 no se fosforila en respuesta a la insulina, con lo que se pierde la regulación por la insulina de la expresión de los genes responsables de la gluconeogénesis hepática. Finalmente, la proteína BAD no se fosforila, con lo que la insulina pierde el control de la expresión del proteína ligando de FAS.

Por otro lado, se ha investigado las consecuencias de la falta de IRS-2 en células beta aisladas. Así, la pérdida de señalización de la insulina a través de Foxo1 supone una pérdida de expresión del factor ductal pancreático (PDX-1), la cual a su vez está asociada a la expresión de IRS-2. Un dato clave es la haploinsuficiencia de PDX-1. En efecto, el ratón heterocigoto para dicho gen no es capaz de desarrollar la hiperplasia compensatoria propia de los ratones heterocigotos para IR/IRS-1 y del ratón LIRKO carente del receptor de insulina en el hígado.

Gracias a la tecnología de la recombinación genética por la recombinasa, se han podido obtener ratones carentes del receptor de insulina de manera específica de tejido. Ello, ha permitido establecer el papel del receptor de la insulina en relación con los tejidos diana de la insulina más relevantes. En hígado, el ratón carente del receptor de insulina de manera tejido-específica (LIRKO), induce una severa resistencia a la insulina, la cual evoluciona en una franca intolerancia a la glucosa, hiperglucemia e hiperinsulinemia, todo ello relacionado con un incremento de la producción de glucosa por el hígado. Este fenotipo de diabetes manifiesta fue aparente a los dos meses de vida. Además, los ratones LIRKO presentaban *in vivo* un menor consumo de glucosa en respuesta a la insulina y en respuesta al ensayo de *clamping* hiperinsulinémico/euglicémico, cuando se les comparaba con los ratones control. Igualmente, la producción hepática de glucosa no se inhibía en dicho ensayo, tal y como ocurría en los ratones controles. Sin embargo, el fenotipo diabético se revertía progresivamente entre los cuatro y los seis meses de vida, de tal manera que a los seis meses se había restablecido por completo el metabolismo normoglucémico. Esta regresión de la intolerancia a la glucosa era debida a un aumento paralelo del consumo de glucosa hepático, probablemente debido a una disfunción hepática.

En el músculo esquelético, la falta del IR de manera tejido-especifica (el ratón MIRKO) no produjo efecto alguno sobre la tolerancia a la glucosa. Estos resultados resultaron sorprendentes, dada la importancia del músculo esquelético en el consumo de glucosa insulino-dependiente. Ello, fue debido al desarrollo de mecanismos compensatorios en relación con el consumo de glucosa por parte del tejido adiposo blanco. El aumento en el consumo de glucosa dio como resultado un aumento de la masa adiposa y, consiguientemente, en un aumento del peso corporal y la obesidad. La deleción del IR en el tejido adiposo blanco de manera tejido-especifica, produjo una disminución de la masa adiposa blanca, sin afectar la tolerancia a la glucosa o a la insulina. Sin embargo, los ratones FIRKO mostraron resistencia a desarrollar obesidad tanto en respuesta al envejecimiento, a lesiones hipotalámicas o a la dieta hiperlípidica. La deleción específica del IR en tejido adiposo marrón (BATIRKO), mostró un 50% de ratones diabéticos y otro 50% sin fenotipo. Los ratones diabéticos presentaban un defecto en la secreción de insulina, sin mostrar RI. Dicho defecto fue observado tanto *in vivo* en respuesta a la insulina (test de secreción de la insulina), como en islotes aislados de ratones diabéticos en respuesta a

glucosa 16.5 mM. En las células beta del páncreas, la deleción tejido-específica del IR origina a un defecto en la secreción de insulina, lo cual desencadena una progresiva intolerancia a la glucosa e hiperglucemia. Este defecto estaba relacionado con una respuesta inadecuada a la insulina *in vivo*, lo cual es una característica del fenotipo diabético tipo-II. Con posterioridad, se definieron dos grupos de ratones en relación con el test de secreción de insulina. Uno mostraba una marcada reducción en la secreción de insulina en páncreas aislado en respuesta a los secretagogos, e intolerancia a la glucosa (fenotipo diabético), y otro no (fenotipo no diabético). Sin embargo, todos los ratones mutantes mostraban un menor contenido de insulina en el páncreas, una menor masa de células beta y un menor número de islotes, en comparación con los ratones controles. Además, la expresión de GLUT2 y glucoquinasa estaba disminuida en todos los ratones mutantes. Todos estos datos apuntan a un papel dual del receptor de la insulina en la célula beta pancreática, en relación con el crecimiento de las células beta y con la maduración de la maquinaria de sensibilidad a la glucosa implicada en la secreción de la insulina. La deleción del receptor de IGF-I (IGF-IR) tejido-específica de células beta pancreáticas origina, igualmente, un defecto en la secreción de insulina en respuesta a secretagogos.

Dicho defecto está relacionado con una pérdida de expresión de GLUT2 y glucoquinasa en los islotes beta, lo cual se traduce en un defecto en la secreción de insulina inducida por glucosa y en una intolerancia a la glucosa. Sin embargo, no se produjo ningún efecto en relación con la masa de células beta o el número de islotes en los mutantes comparados con los ratones control. Estos resultados sugieren que el receptor IGF-IR no es esencial para el desarrollo beta pancreático, pero participa en la diferenciación de la maquinaria de secreción de la insulina en respuesta a la glucosa en las células beta.

Nuevas Perspectivas en el Tratamiento de la Obesidad

Las primeras indicaciones para el tratamiento de la obesidad junto con la restricción calórica es el ejercicio físico de manera dosificada y con cargas adecuadas a la condición física de cada paciente obeso. Existen considerables evidencias que la restricción calórica aumenta la esperanza de vida y reduce el riesgo de desarrollar diabetes, enfermedad cardiovascular, desórdenes degenerativos y algunos tipos de cáncer. Los dos mecanismos

principales que estarían implicados en los efectos "anti-envejecimiento" y "anti-obesidad" de la restricción calórica, serían:

(1) una menor producción de radicales libres mitocondriales, y

(2) un aumento de la producción de proteínas resistentes al estrés celular.

Además de la restricción calórica, hay evidencias que muestran que un balance energético mantenido durante varios meses, donde se incluye un aumento del gasto energético suele resultar efectivo en la disminución de la adiposidad. Esta reducción se produce principalmente en la grasa visceral, que es la que posee receptores y actividad lipolítica mayor que el tejido adiposo de otras regiones. Además, personas con un buen estado físico tienen la lipólisis en reposo mayor que los inactivos. Otro aspecto que mejora el ejercicio físico en pacientes obesos es el perfil lipídico. En primer lugar, eleva las HDL y por tanto disminuye el cociente LDL/HDL y el riesgo cardiovascular. Además, el ejercicio aumenta el tamaño de las partículas de LDL y HDL resultando un perfil lipídico menos aterogénico que las partículas pequeñas de LDL y HDL, propias de los pacientes obesos. Asimismo, un ejercicio físico regular también disminuye los niveles de triglicéridos en aquellos individuos con valores inicialmente altos, a través de una mejora en la sensibilidad a la insulina. También el ejercicio físico produce distintas adaptaciones metabólicas que pueden resultar beneficiosas para el tratamiento de la obesidad. Se produce un aumento del potencial oxidativo y así, se favorece que se metabolicen más lípidos e hidratos de carbono de forma aeróbica, produciendo adaptaciones periféricas muy deseables. Por tanto, el ejercicio físico normaliza el perfil metabólico y permite la disminución de la morbimortalidad por estas causas.

Para poder combatir esta epidemia mundial que es la obesidad y evitar así las complicaciones metabólicas y vasculares que está continuamente creciendo, además de los tratamientos establecidos, tanto la restricción calórica, el ejercicio, los distintos fármacos o la cirugía, hay que aunar esfuerzos para avanzar en el conocimiento del tejido adiposo marrón y su prometedor potencial terapéutico frente a la obesidad y las complicaciones asociadas. Se ha descrito que la respuesta adaptativa del tejido adiposo marrón a un moderado e intermitente estrés a través de la activación simpática, podría aumentar la

proliferación y diferenciación de células progenitoras de adipocitos marrones, además de incrementar la masa mitocondrial y la expresión de UCP-1 en tejido adiposo marrón. Todos estos efectos, junto con la estimulación de BAT en los depósitos de tejido adiposo blanco o en el músculo esquelético, podrían aumentar el gasto energético y reducir el estrés oxidativo y la adiposidad visceral y en consecuencia, una mayor resistencia a desarrollar obesidad y enfermedades metabólicas y vasculares asociadas a la misma. Curiosamente, el transplante de tejido adiposo marrón (0.1-0.4 g) a la cavidad visceral de un ratón es capaz de prevenir la ganancia de peso y mejorar la homeostasis glucídica en el ratón obeso sometido a dieta grasa. Por otro lado, como se han identificado que los depósitos de tejido adiposo marrón en humanos están compuestos por adipocitos beige; estos resultados podrían abrir nuevas vías de investigación para determinar si este tipo de células podrían tener cierto potencial terapéutico. Así, la irisina que es una molécula circulante endógena y media algunos beneficios que produce el ejercicio y además activa a los adipocitos beige en roedores, podría representar uno de los caminos aplicables a humanos. Finalmente, dada la capacidad del tejido adiposo marrón en el gasto energético y los efectos sobre el metabolismo lipídico y glucídico, así como su potencial resistencia a la inflamación junto con el tejido adiposo perivascular; las nuevas perspectivas del tratamiento de la obesidad podrían centrarse en el diseño de nuevos fármacos o distintos regímenes o terapias que incrementen la cantidad y función del tejido adiposo marrón no sólo para luchar contra la obesidad sino también para prevenir la diabetes tipo 2 y otros desórdenes metabólicos y vasculares (Figura 5).

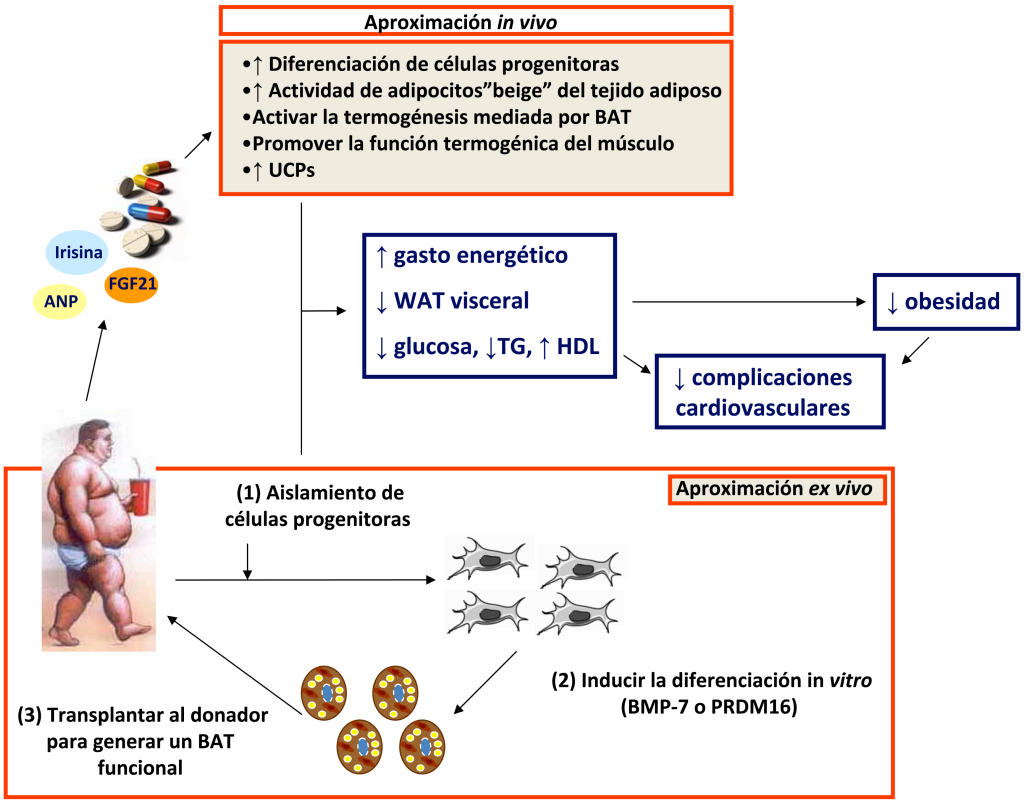

Figura 5. Nuevas perspectivas en el tratamiento de la obesidad. Basado en los conocimientos actuales como futuras aproximaciones tanto in vivo como ex vivo para el tratamiento de la obesidad. Todas ellas están destinadas a producir la activación del tejido adiposo marrón o la diferenciación de células progenitoras o beige en adipocitos marrones o promover la termogénesis en el músculo con el fin de favorecer la termogénesis, el gasto energético, la reducción de la adiposidad visceral así como un mejor control de la glucosa y el perfil lipídico, todo ello reduciendo la obesidad y las complicaciones vasculares asociadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Arner P, Eckel RH (1998). Adipose tissue as storage organ. En: George A. Bray, Claude Bouchard, WPT. James, editors. Handbook of Obesity 8, 379-395.
- Benito M (2006) Resistencia a la Insulina. Diabetes tipo II. En: Enfermedades Metabólicas (Ed F Mayor y M Cascales) Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid. pp37-56.
- Bessesen DH, Robertson AD, Eckel RH (1991) Weight reduction increases adipose but decreases cardiac LPL in reduced-obese Zucker rats. Am J Physiol Endocrinol Metab. ; 261(2 Pt 1): E246–E251.

- Caballero B (2007). The global epidemic of obesity: an overview. Epidemiol Rev 29, 1-5.
- Calvo-Monfil C (2005) Dislipemias y atherosclerosis. En: Bioquímica y Fisiopatología de la Nutrición (eds M Cascales, D Espinós y P García Barreno). Instituto de España Madrid pp 257-276
- Canale MP, Manca di Villahermosa S, Martino G Rovella V, Noce A, De Lorenzo A y Di Daniele N (2013) Obesity-Related Metabolic Syndrome: Mechanisms of sympathetic overactivity. Intern J Endocrinol 2013, Article ID 865965, 12 áginas
- Cascio G, Schiera G, Di Liegro I (2012) Dietary fatty acids in metabolic syndrome, diabetes and cardiovascular diseases. Curr Diabetes Rev 8, 2-17.
- De Luca C y Olefsky JM (2009) Inflammation and insulin resistance. FEBS 582, 97-105.
- Després JP, Lemieux I, Bergeron J et al., (2008) Abdominal Obesity and the Metabolic Syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 28, 1039–1049,.
- Fernandez-Veledo,S, Nieto-Vazquez,I, et al., (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, 2866-2876.
- Fuentes E, Guzmán-Jofre L, Moore-Carrasco R y Palomo I (2013) Role of PPARs in inflammatory processes associated with metabolic syndrome (Review) Mol Med Reports 8, 1611-1616.
- Nieto-Vazquez,I, Fernandez-Veledo,S, de Alvaro,C, Lorenzo,M (2008) Dual role of interleukin-6 in regulating insulin sensitivity in murine skeletal muscle. Diabetes 57:3211-3221, 2008
- Fernandez-Veledo,S, Nieto-Vazquez,I, Vila-Bedmar,R, Garcia-Guerra,L, Alonso-Chamorro,M, Lorenzo,M (2009) Molecular mechanisms involved in obesity-associated insulin resistance: therapeutical approach. Arch Physiol Biochem 115, 227-239.
- Fernandez-Veledo,S, Vila-Bedmar,R, Nieto-Vazquez,I, Lorenzo,M (2009) c-Jun N-terminal kinase 1/2 activation by tumor necrosis factor-alpha induces insulin resistance in human visceral but not subcutaneous adipocytes: reversal by liver X receptor agonists. J Clin Endocrinol Metab 94:3583-3593.

- Fernández-Veledo S (2010) Obesidad, inflamación y resistencia a la insulina SEBBM divulgación
- Ishibashi J, Seale P. (2010) Medicine. Beige can be slimming. Science. 328, 1113-1114.
- Lorenzo M y Benito M (2010) From insulin action to hormonal resistance. Old to recent molecular mechanisms. En: Type 2Diabetes Mellitus. Eds Serrano-Rios, M, Fuentes Gutierrez JA. Elsevier pp 105-130.

- Maury,E, Brichard,SM (2010): Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. Mol Cell Endocrinol 314, 1-16.
- Mooradian AD (2009). Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. Nat Clin Pract Endocrinol Metab. 5, 150-159.
- Obesidad y sobrepeso. Nota descriptiva N°311. Oreganización Mundial de la Salud. Marzo de 2011
- Phillips LK y Prins JB (2008) The link between abdominal obesity and the metabolic syndrome. Current Hypertension Reports, . 10, 156–164
- Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M and Spiegelman BM (1998): A cold- inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. Cell. 92:829–839.
- Reaven GM (1995) Pathophysiology of insulin resistance in human disease. Physiol Rev 75, 473–486.
- Reaven GM (1998) Role of insulin resistance in human disease. Diabetes. 37, p. 1595–1607.
- Serrano-Rios M (2011) Obesity and type 2 diabetes mellitus. The reciprocal impact. En: Obesity (eds Serrano-Rios, Ordovas JM y Fuentes-Gutierrez JA. Elsevier pp 215-231
- Shirai K (2004) Obesity as the core of the metabolic syndrome and the management of coronary heart disease. Curr Med Res Opin 20, 295–304,
- Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB (2006). Inflammation and insulin resistance. J Clin Invest 116, 1793-801.