



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**ASOCIACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS CON LA RESISTENCIA A INSULINA. VÍAS DE INFLAMACIÓN
Y METABOLISMO**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA
LAURA ANTONIO HERRERA**



MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Mireya Rodríguez Penagos

VOCAL: Profesor: María Eugenia Torres Márquez

SECRETARIO: Profesor: María Elena Ibarra Rubio

1er. SUPLENTE: Profesor: Marta Alicia Menjívar Iraheta

2° SUPLENTE: Profesor: Perla Deyanira Maldonado Jiménez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

FACULTAD DE MEDICINA, DEPTO. DE BIOQUÍMICA

ASESOR DEL TEMA:

MARÍA EUGENIA TORRES MÁRQUEZ

SUSTENTANTE:

LAURA ANTONIO HERRERA

| | |
|--|----|
| ÍNDICE | 3 |
| Lista de abreviaturas | 4 |
| INTRODUCCIÓN | 5 |
| METODOLOGÍA | 5 |
| INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL TEMA | 6 |
| 1. LA RESPUESTA A INSULINA..... | 6 |
| 1.1 Insulina, características y expresión..... | 6 |
| 1.2 La acción de insulina en el metabolismo..... | 6 |
| 1.3 Señalización de insulina..... | 7 |
| 1.4 ¿Qué es la resistencia a insulina?..... | 9 |
| 2. METABOLISMO..... | 10 |
| 2.1 Generalidades de ácidos grasos..... | 10 |
| 2.2 Metabolismo de glucosa..... | 12 |
| 2.3 Resistencia a insulina inducida por ácidos grasos..... | 12 |
| 3. VÍA INFLAMATORIA DE LA RI INDUCIDA POR FFAs..... | 20 |
| 3.1 La respuesta inflamatoria..... | 20 |
| 3.2 La implicación de NFκB en la resistencia a insulina..... | 21 |
| 3.3 JNK: un segundo elemento esencial de señalización en la RI..... | 24 |
| 3.4 Las ROS son capaces de activar las vías de JNK y NFκB..... | 26 |
| 3.5 La inducción de inflamación por FFAs mimetiza a la respuesta a LPS..... | 28 |
| DISCUSIÓN | 32 |
| CONCLUSIONES | 35 |
| BIBLIOGRAFÍA | 35 |
| Figuras | |
| Fig. 1 Acción de insulina en la célula..... | 7 |
| Fig. 2. Señalización de insulina..... | 8 |
| Fig. 3 Estructuras de ácidos grasos..... | 10 |
| Fig. 4 Metabolismo de TGs..... | 11 |
| Fig 5. Fuentes de ROS..... | 17 |
| Fig. 6. Mecanismos propuestos para la RI inducida por palmitato en células HepG2.... | 19 |
| Fig.7 Vía clásica de NF-KB..... | 22 |
| Fig. 8. Activación de JNK..... | 25 |
| Fig.9. Comunicación cruzada de ROS con la señalización de NF-KB..... | 26 |
| Fig. 10 Activación de JNK por ROS exógenas y endógenas..... | 27 |
| Fig. 11 Estructura del LPS..... | 28 |
| Fig. 12 Señalización de LPS/TLR4..... | 29 |
| Fig. 13 FFAs y RI..... | 34 |

Lista de abreviaturas

(por sus siglas en inglés):

Akt: cinasa de serina/treonina, producto del proto-oncogen AKT

AP-1: proteína activadora-1

ASK1: cinasa cinasa cinasa MAP

BMI: índice de masa corporal

DAG: diacil glicerol

DHA: ácido decosahecanoico

FA: ácido graso

FFAs: ácidos grasos libres

FOXO1: proteína codificada por el gen foxo1

G6P: glucosa 6 fosfato

GLUT4: transportador de glucosa tipo 4

GS: glucógeno sintetasa

GSGG: glutatión oxidado

GSH: glutatión reducido

GSK3: glucógeno sintetasa cinasa-3

HFD: dieta alta en grasas

IKK: I κ B cinasa

IL: interleucina

IR: receptor de insulina

IRAK-4: cinasa 4 asociada al receptor de IL-1

IRS-1: sustrato del receptor de insulina-1

JNK: cinasa c-Jun NH₂-terminal

LBP: proteína de unión a LPS

LPS: lipopolisacárido

MAPK: proteína cinasa activada por mitógeno

MCP-1: proteína 1 quimiotáctica de monocitos

MyD88: gen primario de respuesta de diferenciación mieloide

NEMO: modulador esencial del NF- κ B

NF κ B: factor nuclear- κ B

NMR: resonancia magnética nuclear

NOX2: NADPH oxidasa-2

PAMPs: patrones moleculares asociados a patógenos

PEPCK: fosfoenolpiruvato carboxicinasasa

PI3K: fosfatidilinositol cinasa-3

PKC: proteína cinasa C

PRRs: receptores de reconocimiento de patrones

PUFA: ácido graso poliinsaturado

RI: resistencia a insulina

ROS: especie reactiva de oxígeno

TAK1: cinasa 1 activada por TGF- β

TG: triglicerido

TGF- β : factor de crecimiento transformante- β

TIR: receptor toll-interleucina- 1

TIRAP: proteína adaptadora con dominios TIR

TLR4: receptor tipo toll 4

TNF- α : factor de necrosis tumoral- α

TRAF6: factor 6 asociado al receptor de TNF

WHO: organización mundial de la salud

ZDF: ratas obesas diabéticas Zucker

INTRODUCCIÓN

La resistencia a insulina (RI) es una característica común en enfermedades como el síndrome metabólico, la diabetes tipo II y enfermedades cardiovasculares que representan importantes problemas de salud pública [Muniyappa y cols. 2008]. Los pacientes con estas enfermedades presentan altos niveles de ácidos grasos libres (FFAs) en plasma, un estado crónico inflamatorio leve y alteraciones del metabolismo de lípidos y de glucosa [Koutsari y Jensen, 2006].

En macrófagos y adipocitos, aislados y en líneas celulares, al ser estimulados con ciertos ácidos grasos (FAs) de cadena larga, saturados e insaturados, se observa sobreproducción de citocinas inflamatorias [Nguyen y cols. 2007; Bradley y cols. 2008]. La influencia de los FAs y su inducción de citocinas proinflamatorias se han correlacionado con la RI en tejidos que responden a la hormona y en sistemas *in vivo*. Recientemente se ha descubierto otro inductor de RI: las especies reactivas de oxígeno (ROS). Estos tres factores que conllevan a la RI, estimulan a su vez a cinasas y a factores de transcripción involucrados en la respuesta inflamatoria [Bloch-Damti y cols. 2006].

Estos hallazgos han promovido la investigación del papel del exceso de los FFAs en plasma y tejidos individuales en la resistencia a insulina inducida por inflamación. En base a lo anterior, se propone que el evento inicial de este desajuste metabólico es la alteración del metabolismo de lípidos que da lugar al estado inflamatorio. La inflamación propaga entonces el estímulo inicial a elementos de señalización de la inmunidad innata. Así, se establece una comunicación cruzada entre vías de señalización metabólicas e inflamatorias que actúan en concierto, y de manera dependiente del tejido, en la diseminación de la RI. La cronicidad de

los inductores, internos y externos y de las vías de señalización activadas fijarán la RI.

El entender los posibles mecanismos moleculares inductores y/o fijadores de la resistencia a insulina permitiría eventualmente determinar mecanismos preventivos y blancos terapéuticos para casos que lo ameriten. Por tanto, el presente trabajo tiene por objetivo dar a conocer el papel que los FFAs tienen sobre la generación de la resistencia a insulina, así como la investigación generada en la última década sobre los mecanismos moleculares involucrados en este fenómeno, particularmente dos vías principales: la inflamatoria y la metabólica.

METODOLOGÍA

A partir de lecturas que relacionan a la inflamación con la resistencia a insulina se definió el tema y se planteó un esquema de investigación, ambos se modificaron sobre la marcha de la investigación. Se recopilaron artículos relativos a la resistencia a insulina (RI), inflamación, síndrome metabólico, ácidos grasos saturados en la RI, metabolismo de lípidos, metabolismo de glucosa, señalización de insulina, estrés oxidante, cinasas activadas por estrés, endotoxemia y obesidad, en las bases de datos: Scopus, Wiley library, Pubmed, American Diabetes Association.org, World health organization.org y google académico. Para la recopilación de información con fines introductorios y conceptos fundamentales se consultaron artículos de revisión publicados entre 1990-2011 y el libro en línea The Medical Biochemistry Page. La información general corresponde al análisis de los datos de publicaciones de investigación original del período 2000-2011. La información analizada se resumió y presentó de acuerdo a su relevancia para los bloques de información de metabolismo energético y de inflamación,

que se subdividieron en: conceptos, alteraciones durante la RI, señalización e inductores de RI. Las referencias se citan en el texto correspondiente.

INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL TEMA

1. LA RESPUESTA A INSULINA

1.1 Insulina, características y expresión

La insulina, descubierta en 1922, es una hormona polipeptídica de ~5.8 kDa en humanos. Consiste de dos cadenas polipeptídicas cortas unidas por puentes disulfuro: la cadena A y la cadena B. La insulina se deriva biosintéticamente de su precursor, la proinsulina, que consiste de las cadenas A y B unidas por un péptido conector, identificado como péptido C. Sin embargo, el producto inicial de la traducción del gen de la insulina es la preproinsulina, que contiene un péptido señal N-terminal o prepéptido, de 24 aminoácidos, unido a la proinsulina [Oliart y cols., 1998].

La preproinsulina es sintetizada en las células β de los islotes de Langerhans del páncreas. El gen es transcrito a RNAm, el cual, después de la remoción de los intrones y de la adición de poliA en la región 3', es traducido a preproinsulina. La transformación de preproinsulina a proinsulina ocurre en el retículo endoplásmico rugoso, casi paralelamente con la traducción, con la eliminación del péptido señal, siendo transportada al aparato de Golgi en microvesículas, donde es empacada en gránulos de secreción, dentro de los cuales ocurre una continua conversión de la proinsulina a insulina, con la liberación del péptido C [Oliart y cols., 1998].

En el adulto la expresión del gen de insulina se encuentra altamente regulada, transcribiéndose únicamente en las células β de páncreas y, posiblemente, en algunas áreas muy localizadas del cerebro [Oliart y cols., 1998].

La insulina es sintetizada y secretada en respuesta a varios estímulos, siendo la glucosa el principal agonista. La glucosa estimula la

liberación de los gránulos de secreción y actúa a varios niveles para aumentar a) la síntesis de la insulina, a nivel de la transcripción y procesamiento del preRNAm, b) la estabilidad del mensajero, disminuyendo su velocidad de degradación, c) la traducción y el procesamiento de proinsulina a insulina [Oliart y cols., 1998].

1.2 La acción de insulina en el metabolismo

La insulina regula una gran variedad de procesos metabólicos. Además de sus efectos primarios en la homeóstasis de la glucosa, la insulina promueve diversos procesos celulares, como la regulación del transporte de iones y aminoácidos, el metabolismo de los lípidos, la síntesis de glucógeno, la transcripción de genes específicos, la síntesis y degradación proteica y la síntesis de DNA. Por lo tanto, la insulina tiene un papel clave en el almacenamiento de la energía y en el crecimiento y diferenciación celular (**Fig. 1**) [Oliart y cols., 1998].

Después de consumir un alimento, la insulina estimula el almacenaje de combustibles. Promueve la síntesis de glucógeno en músculo e hígado y suprime la gluconeogénesis en este último. También acelera la glucólisis en hígado, por estimulación de la glucosa cinasa. Al acelerar la glucólisis en presencia de altos niveles de ATP genera altas concentraciones de acetil CoA que llevará al incremento de la síntesis de ácidos grasos [Berg y cols., 2011].

El hígado ayuda a limitar la cantidad de glucosa en la sangre, durante el periodo de saciedad, almacenándola como glucógeno, de manera que sea capaz de liberar glucosa cuando se requiera. Consecuentemente, el hígado forma glucosa 6 fosfato (G6P) más rápidamente a medida que los niveles de glucosa en sangre aumentan. El aumento de G6P, aunado a la acción de la insulina, aumenta el almacenaje de glucógeno [Berg y cols., 2011]. Esto es así por la estimulación

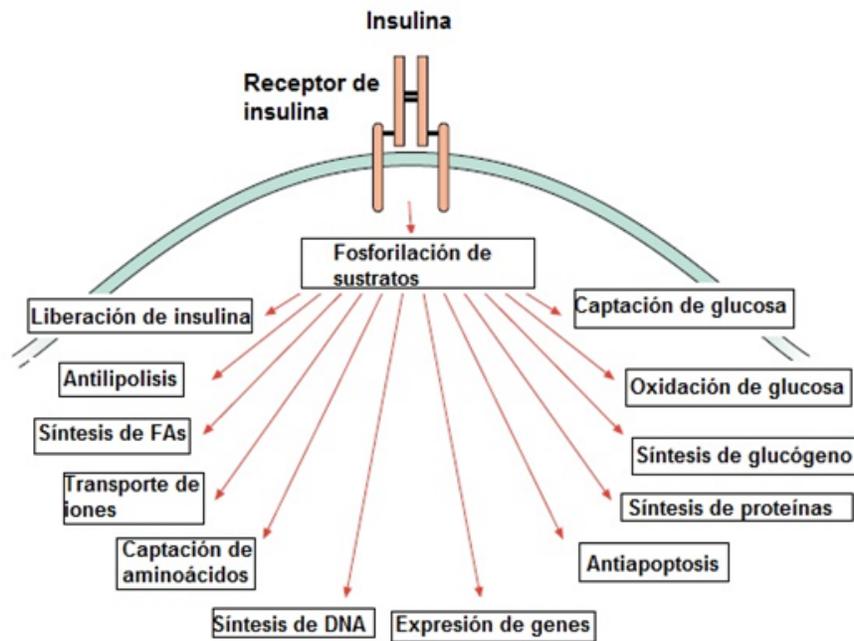


Fig. 1 Acción de insulina en la célula
[Najjar, 2001].

de la glucógeno sintetasa e inhibición de la G6 fosfatasa, mediada por insulina [King, 2011 (c)].

Después de la alimentación, la glucosa está disponible y por tanto, la insulina estimula el transporte glucosa al músculo y al tejido adiposo, por el aumento en el número de transportadores de glucosa tipo 4 (GLUT4) en la membrana plasmática [King, 2011 (c)].

También, se ha mostrado que la inyección intracerebrovascular de insulina, o de moléculas pequeñas que mimetizan a la insulina, disminuye la producción hepática de glucosa, lo cual introduce la posibilidad de la acción de insulina en el hipotálamo, para el control de la utilización de glucosa en la periferia [Plum y cols., 2006].

Por otra parte, estudios han demostrado el papel de la insulina en la regulación del estado dietético. En el cerebro regula la expresión de neuropéptidos anorexigénicos (supresores del apetito) y orexigénicos. La insulina disminuye la expresión del neuropéptido orexigénico, mientras que aumenta la expresión del neuropéptido anorexigénico propiomelanocortina [Plum y cols.,

2006].

1.3 Señalización de insulina

La transmisión de las señales activadas por la insulina se inicia por la unión de ésta a su receptor específico de membrana (IR), que está compuesto por dos subunidades α y dos subunidades β , formando un $\alpha_2\beta_2$ - heterotetrámero. La subunidad α es extracelular y contiene el dominio de unión a la insulina, mientras que la subunidad β atraviesa la membrana plasmática y posee actividad de tirosina cinasa [Oliart y cols., 1998].

La unión de insulina al receptor promueve la autofosforilación de la subunidad β , y la rápida fosforilación de los sustratos exógenos, iniciando unacascadefosforilaciones/desfosforilaciones. El principal sustrato es el denominado sustrato del receptor de insulina-1 (IRS-1); éste es una proteína citosólica que contiene 20 sitios potenciales de fosforilación en tirosina y más de 40 sitios de fosforilación potencial en serina/ treonina. Su fosforilación en tirosina induce su asociación con varias proteínas que contienen el dominio SH2, que son sitios de unión de alta

afinidad a fosfotirosina (pY) [Oliart y cols., 1998]. De esta manera, las proteínas IRS funcionan como moléculas de acoplamiento para mediar la interacción indirecta entre el IR y las moléculas de señalización corriente abajo.

Hay 2 vías principales que propagan la señal generada a través del IR: la vía IRS/fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K) y la vía de Ras/proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK). Al parecer los efectos metabólicos de la insulina requieren la activación de la vía IRS/PI3K, mientras que la vía Ras/MAPK estimula

los efectos a largo plazo de la insulina, ie. crecimiento y proliferación [Najjar, 2001]. Este presente trabajo tiene que ver principalmente con los efectos metabólicos de insulina y por esto describimos más de la vía IRS/PI3K. El complejo de señalización intracelular formado entre los dominios SH2 del IRS y la subunidad reguladora (p85) de la enzima PI3K es clave en la acción de la insulina y promueve la activación de la subunidad catalítica p110 de PI3K [Najjar, 2001]. La vía completa se describe en la **Fig. 2**.

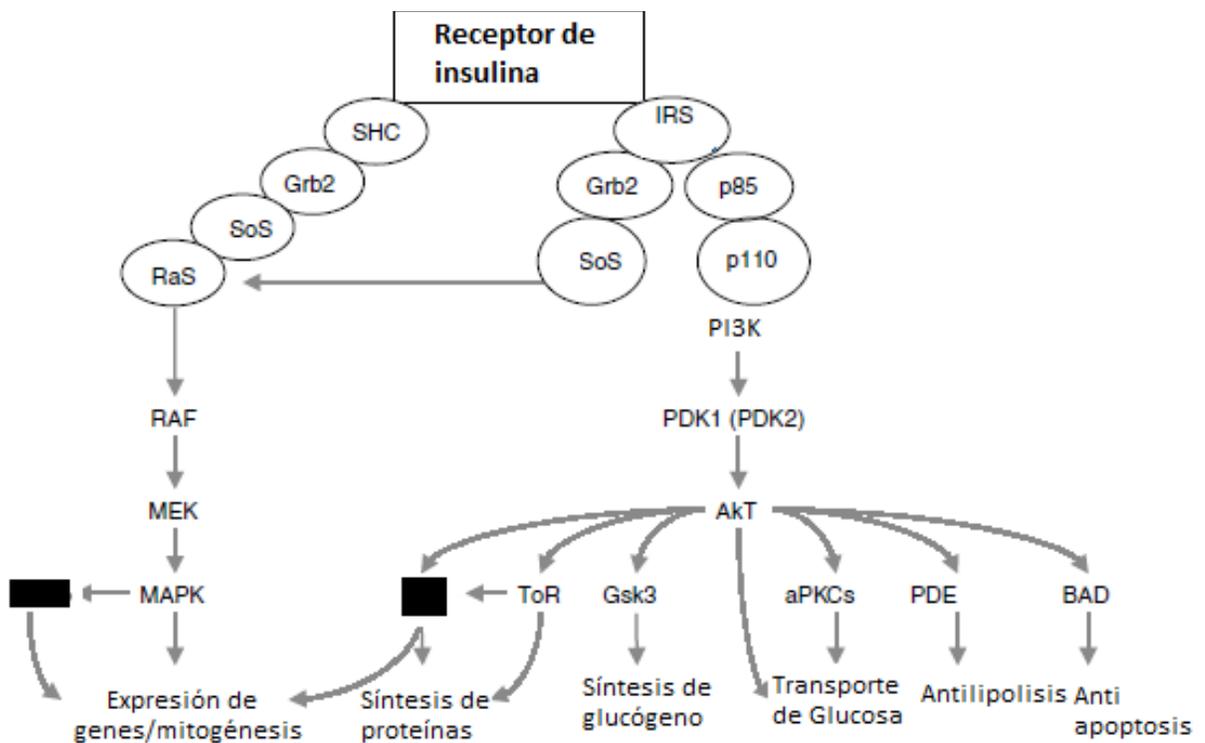


Fig. 2 Señalización de insulina.

La unión de insulina a su receptor cinasa resulta en la fosforilación de tirosina de los IRSs. Esto permite la asociación de los IRSs con la subunidad reguladora de la PI3K. PI3K activa a PDK1, que activa a Akt. La Akt activa a la GSK-3, dando lugar a la activación de la GS y a la síntesis de glucógeno. La activación de Akt también resulta en la traslocación de las vesículas de GLUT4 hacia la membrana plasmática y da lugar a la activación mediada por mTOR. También activa la vía de MAPK y la transcripción de genes.

[Modificado de Le Roith y cols., 2003].

1.4 ¿Qué es la resistencia a insulina?

En 1936, el concepto de resistencia (RI) se utilizaba para describir a los pacientes diabéticos que requerían altas dosis de insulina. Actualmente, la RI es definida como sensibilidad disminuida o falta de respuesta a las acciones metabólicas de la insulina, como la disposición de glucosa mediada por ésta hormona, e inhibición de la producción hepática de glucosa [Muniyappa y cols., 2008].

En la investigación clínica y básica la RI se determina identifica a través de pruebas como: determinación de la producción hepática de glucosa, la restricción euglicémica-hiperinsulinémica, la captación de glucosa por tejidos sensibles, entre otras pruebas [Muniyappa y cols., 2008]. Las pruebas se utilizan en modelos *in vitro* e *in vivo*, pues la resistencia a insulina no se limita a un efecto sistémico, sino también a su desarrollo en los tejidos individuales sensibles a insulina.

La RI no se puede caracterizar fácilmente, pero sí es diagnosticada por una serie de parámetros como: la historia familiar de diabetes, la historia gestacional de diabetes, el síndrome de ovario poliquístico, las alteraciones en el metabolismo de glucosa y la obesidad [Rao, 2001].

Aunque no está claro cómo es que se genera esta condición, se conocen agentes inductores como la cantidad o el nivel de ácidos grasos libres (FFAs) y sus metabolitos, el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y otras citocinas. Recientemente también se han propuesto a las especies reactivas de oxígeno [Le Roith y cols., 2003].

Por lo tanto, la RI es el resultado de la alteración de múltiples variables que a la vez involucran a una amplia gama de vías de señalización. A este respecto, se ha descrito junto con la desregulación del metabolismo de

glucosa y de lípidos, en estados de RI, así como la alteración de vías inflamatorias relacionadas a esta condición.

1.4.1 Patologías asociadas a la RI

La RI junto con la hipertensión, las dislipidemias, y otras anormalidades, son también conocidas como síndrome metabólico [Rao, 2001].

Este último y la obesidad son factores de riesgo para el desarrollo de diabetes y enfermedades cardiovasculares, según la organización mundial de la salud (WHO). Si bien los expertos en el tema y organizaciones internacionales de la salud no concuerdan en una definición única, es claro que la RI prevalece como un componente central del síndrome metabólico [Gallagher y cols., 2008].

La obesidad, particularmente la adiposidad abdominal, es un preludio frecuente para la diabetes tipo II y sus consecuencias patológicas. Numerosos estudios animales y humanos han documentado esta progresión de eventos [Lane, 2009]. La WHO define a la obesidad como la acumulación de grasa anormal o excesiva que representa un riesgo para la salud. Los individuos con un índice de masa corporal (BMI) de más de 25 son considerados con sobrepeso, y aquellos con un BMI > 30 son considerados obesos [WHO (2011)].

La causa fundamental de sobrepeso y obesidad, postulan, es el desequilibrio energético entre calorías consumidas y calorías gastadas, esto es: incremento en la ingesta de alimentos de alto contenido energético, abundantes en grasas, en sal y azúcares, pero escasos en vitaminas, minerales y otros micronutrientes; aunados a poca actividad física debida a la naturaleza sedentaria de muchos de los trabajos, cambios en el modo de transporte y al incremento de la urbanización [WHO (2011)].

Además, existe una conexión entre la

obesidad y la inflamación a un nivel subclínico [Laugerette y cols., 2011]. El estado inflamatorio en la obesidad se observa histológicamente por acumulación de macrófagos, formando estructuras parecidas a coronas, alrededor de los adipocitos de adultos obesos [Tam y cols., 2010]. Mientras que en el plasma se encuentran elevados algunos marcadores de inflamación, como el TNF- α y la interleucina-6 (IL-6) [Laugerette y cols., 2010]. Así, en el estudio de las enfermedades metabólicas, especialmente en la RI, estos hallazgos han establecido un eje: obesidad-inflamación-RI.

Asimismo, en estudios realizados en pacientes obesos y con diabetes tipo II, se ha vinculado a la RI con una alta concentración de FFAs en plasma [Wilding, 2007], lo cual acarrea una serie de desajustes en la homeostasis de ácidos grasos y de glucosa, como se establecerá en la siguiente sección.

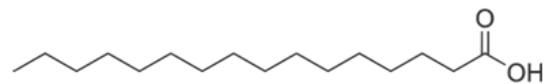
2. METABOLISMO

2.1 Generalidades de ácidos grasos

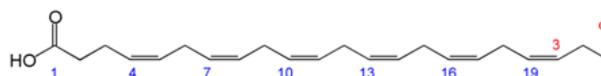
2.1.1 Estructura y presencia

Los ácidos grasos (FAs) son ácidos carboxílicos con cadenas laterales hidrocarbonadas. Los hay de dos tipos: saturados e insaturados (**Fig. 3**). Los insaturados presentan dobles enlaces carbono- carbono. Aquellos con más de un doble enlace se denominan ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs). Dentro de éstos, la designación n (u omega)-3, 6, etc., se refiere a la posición de la insaturación contando desde el carbono más alejado del grupo carboxilo [King, 2011 (a)].

Algunos de los FAs saturados fisiológicamente relevantes son: el ácido mirístico (C14:0) asociado a proteínas de membrana, el ácido palmítico (C16:0) producto final de la síntesis de FAs en mamíferos, y el ácido esteárico (C18:0) uno de los FAs más abundantes en la naturaleza.



Ácido palmítico



Ácido docosahexanoico (DHA)

Fig. 3 Estructura de un ácido graso saturado (palmítico) y de un poliinsaturado (DHA)

http://en.wikipedia.org/wiki/Fatty_acid

Otro FA, importante para este trabajo, es el ácido láurico (C12:0) que se encuentra en pequeñas proporciones en la leche [King, 2011 (a)].

Entre los poliinsaturados está el ácido oleico (C18:1) abundante en tejidos vegetales y animales, de los esenciales enumeramos al ácido linoleico (C18:2), el ácido araquidónico (C20:4) precursor de síntesis de eicosanoides, y el ácido decosahexanoico (DHA), precursor de otros PUFAs [King, 2011 (a)].

Otros lípidos importantes son los triglicéridos (TGs) y son los lípidos de almacenaje. Éstos son ésteres de glicerol con tres FAs, constituyen la principal fuente de energía durante el ayuno y el ejercicio aeróbico. Dentro del organismo, los FAs no esterificados se denominan ácidos grasos libres (FFAs) y por su naturaleza altamente anfipática se unen a proteínas para circular en la sangre [King, 2011 (a)].

Por último, algunos esteres como el diacilglicerol y las ceramidas, son productos intermediarios de la síntesis o degradación de otros lípidos. Su contenido en plasma es muy bajo y algunos actúan como segundos mensajeros en la regulación de diversas actividades celulares [Tvrzicka y cols. 2011].

2.1.2 Metabolismo

Absorción y transporte

La mayoría de los FAs encontrados en el cuerpo son adquiridos a través de la dieta, es de notar el alto contenido (40%) en grasas de la dieta occidental moderna [King, 2011 (a)]. Después de la ingesta de grasas se secretan sales biliares hacia el lumen intestinal. Esto permite la solubilización de lípidos. De esta manera las lipasas pancreáticas, secretadas al intestino, pueden hidrolizar a los TGs de la dieta, produciendo FFAs y una mezcla de mono- y diacilgliceroles (**Fig. 4**). Los productos difunden a las células del epitelio intestinal, donde ocurre la re-síntesis de TGs [King, 2011 (b)]

Los TGs re-sintetizados son empacados en complejos lípido-proteína, denominados quilomicrones, permitiendo así su transporte a la sangre. Los TGs sintetizados en el hígado son solubilizados en otros complejos lípido-proteína, llamados lipoproteínas de muy baja densidad o VLDLs [King, 2011 (b)], [Greenway, 2005].

Lipogénesis

La síntesis de grasas, denominada lipogénesis, abarca los procesos de síntesis de FAs y la síntesis de TGs, y ocurre en el hígado y tejido adiposo. La conversión de carbohidratos a grasas es conocida como lipogénesis de novo. Se lleva a cabo, por ejemplo, cuando se consumen alimentos con alto contenido de carbohidratos, durante el desarrollo fetal, etc. Es de notar que el alto contenido (40%) en grasas de la dieta occidental moderna podría suprimir la lipogénesis de novo. [Greenway, 2005].

Lipólisis

Cuando los FAs son requeridos como combustible, la lipasa sensible a hormonas (HSL) en los adipocitos, hidroliza triglicéridos para dar 3 FFAs y una molécula de glicerol. Una vez liberados en el torrente sanguíneo, los FFAs se

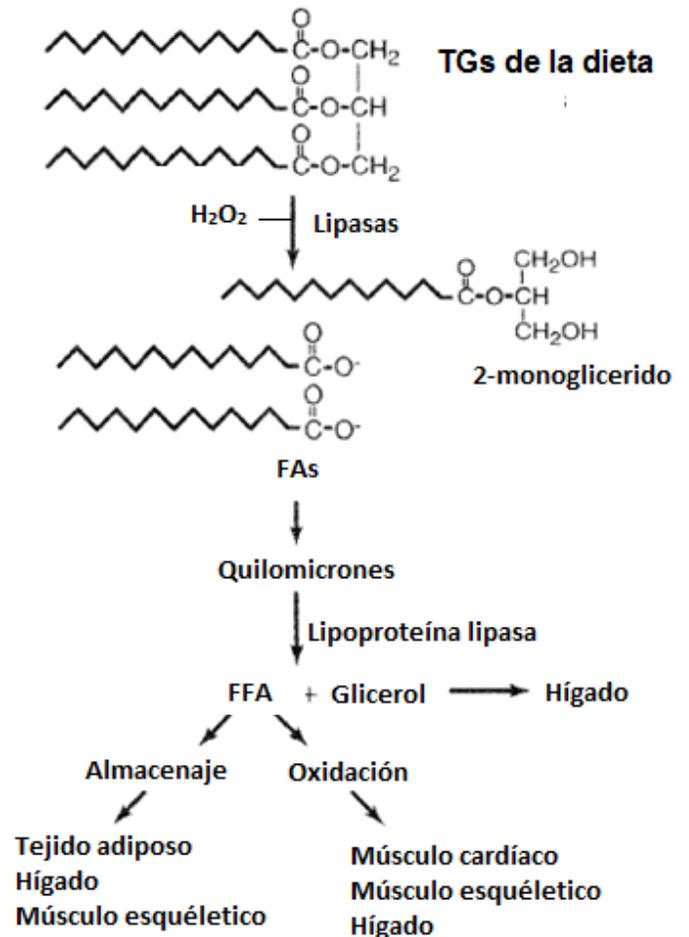


Fig. 4 Metabolismo de TGs. Los TGs de la dieta son hidrolizados por lipasas pancreáticas para dar FFAs y 2-monoglicéridos. Estas moléculas son absorbidas en el intestino y los TGs son regenerados y empacados en quilomicrones para su transporte a la sangre. La digestión de los TGs por la lipoproteína lipasa produce FFAs y glicerol. Los FFAs pueden ser almacenados u oxidados. [Modificado de Greenway, 2005]

unen a albúmina para ser transportados a otros tejidos donde difunden a las células, su grado de entrada a la célula está regulado principalmente por su concentración. Para generar energía los FFAs son oxidados y su grado de oxidación es proporcional a su concentración en sangre. Una vez dentro de la célula, los FFAs son activados con la co-enzima A y son transferidos a la carnitina para ser transportados a la matriz mitocondrial [Greenway, 2005].

2.2 Metabolismo de glucosa

La glucosa es la fuente más importante de energía para el metabolismo humano. Tiene un papel central en el metabolismo, porque muchos tejidos requieren un flujo ininterrumpido de glucosa para suplir sus necesidades energéticas. Además de la dieta, la glucosa también está disponible en forma de glucógeno en el tejido esquelético y en el hígado, o puede ser sintetizada vía gluconeogénesis de algunos metabolitos, incluyendo aminoácidos, lactato y glicerol. El balance entre utilización, almacenaje y síntesis de glucosa depende del estatus hormonal y nutricional de los individuos [Greenway, 2005].

El hígado tiene un papel central en el metabolismo de glucosa y puede dirigir a este azúcar a múltiples usos, incluyendo: (a) catabolismo vía glucólisis y el ciclo de Krebs para producir ATP, (b) almacenaje como glucógeno (glucogenogénesis), (c) utilización como un precursor de carbono para la biosíntesis de metabolitos (ej; ácidos grasos, nucleótidos, entre otros) y (d) generación de NADPH por la vía de las pentosas fosfato para su uso en biosíntesis y la defensa antioxidante [Greenway, 2005].

Es por todo esto que una alteración en el metabolismo de glucosa puede repercutir enormemente en el organismo, pues al rebasarse el mantenimiento del estado de homeostasis se llegan a desarrollar padecimientos como la resistencia a la insulina [Lane, 2009].

2.3 RI inducida por ácidos grasos

2.3.1 Los FFAs inducen RI: alteraciones del metabolismo de glucosa en músculo esquelético

La incapacidad de la insulina para estimular la disposición adecuada de glucosa es una de las características más importantes de la RI [Kim, 2009]. Por lo tanto, en el estudio de modelos de inducción de RI, es primordial establecer, en

primer lugar, la sensibilidad a insulina.

La restricción euglicémica- hiperinsulinémica es ampliamente aceptada como el estándar de referencia para el estudio de la sensibilidad a la insulina. Esta prueba consiste en infundir insulina en el sujeto vía intravenosa a una velocidad constante después de un ayuno durante la noche, lo cual resulta en un nivel de insulina por encima del nivel de ayuno (hiperinsulinémico). La prueba inicia por la mañana al administrar glucosa al 20% (intravenosa) a una velocidad variable para mantener la euglicemia. Bajo estas condiciones se monitorean frecuentemente los niveles de glucosa en sangre [Muniyappa y cols., 2008].

Durante estas condiciones se aumenta la disposición de glucosa para músculo esquelético y tejido adiposo, y al mismo tiempo se suprime la producción hepática de glucosa, de manera que la velocidad de infusión de glucosa debe ser igual a la velocidad de la disposición de la misma. Así, puede determinarse directamente la disposición de glucosa total corporal, a un nivel dado de hiperinsulinemia [Muniyappa y cols., 2008].

En sujetos sanos, sensibles a insulina, se requieren altas velocidades de infusión de glucosa para mantener la euglicemia, dado que la glucosa es rápidamente utilizada y captada por los tejidos durante la hiperinsulinemia. Sin embargo, en sujetos resistentes a insulina se requieren menores velocidades de infusión de glucosa durante esta prueba [Kim, 2009].

En cuanto a glucosa, su consumo es preponderante en tejido nervioso, eritrocitos y músculo esquelético. El músculo es uno de los principales tejidos consumidores de energía y conforman aproximadamente el 40% de la masa corporal en el humano [Halperin y Rolleston, 1993], por lo tanto su papel en la resistencia a insulina se ha estudiado extensivamente.

A este respecto es común encontrar en sujetos

con la RI en músculo esquelético, disminución en la captación y almacenaje glucosa, así como altas concentraciones de FFAs en plasma [Groop y cols., 1989]. Estudios posteriores trataron de establecer si los FFAs eran los responsables de esta alteración del metabolismo de glucosa en músculo.

Uno de los estudios más contundentes fue el realizado por Boden y cols. (1994) quienes en músculo de sujetos sanos infundidos con TGs y sometidos a una restricción euglicémica-hiperinsulinémica, encontraron que las altas concentraciones de FFAs en plasma disminuyen la disposición corporal total de glucosa y su captación además del metabolismo no oxidativo de éste azúcar en músculo esquelético.

Estos autores postularon que los FFAs inhibían a enzimas clave para la síntesis de glucógeno, principalmente a la glucógeno sintetasa [Boden y cols., 1994]. Otros estudios reportaban resultados distintos a los encontrados por Boden y cols. Al parecer, las diferencias se debían a las técnicas experimentales, pues se estudiaban biopsias que no reflejaban necesariamente las condiciones *in vivo*. Por ello, Roden y cols. (1996) utilizaron espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR) *in vivo*, para medir las concentraciones de G6P y la síntesis de glucógeno en el músculo gastrocnemio.

Roden y cols. midieron las concentraciones de los metabolitos en condiciones de restricción euglicémica e hiperinsulinémica en sujetos sanos, en los que se infundió glicerol/heparina (baja concentración de FFAs en plasma) o TGs/heparina (alta concentración de FFAs en plasma) [Roden y cols., 1996].

Puesto que la fijación euglicémica hiperinsulinémica es un método que mimetiza el estado postprandial, en la respuesta "normal" se espera que incrementen la concentración

de G6P y la síntesis de glucógeno [Berg y cols., 2011]. Esto fue así en el grupo con bajas concentraciones de FFAs en plasma bajo condiciones de hiperinsulinemia realizado por Roden y cols. (1996).

En el grupo con alta concentración de FFAs en plasma, los autores encontraron que se necesitaba de una velocidad de infusión de glucosa menor (decaimiento de ~46%) respecto al grupo control (baja concentración de FFAs), para mantener la euglicemia. Esto sugiere que en humanos, los altos niveles de FFAs disminuyen la disposición de glucosa por el organismo lo cual se confirma al observar los niveles de G6P que son significativamente menores en el grupo con altos niveles de FFAs [Roden y cols., 1996].

La concentración medida de glucógeno también fue menor (~44%) en el grupo con altos niveles en plasma de FFAs vs grupo control [Roden y cols., 1996]. Ello en conjunto apunta a que, las altas concentraciones de FFAs, al disminuir a la glucosa intracelular, contribuirían a la disminución de la glucogenogénesis.

En otro estudio independiente, Dresner y cols. (1999) confirmaron los hallazgos del contenido de los metabolitos G6P y glucógeno tras la infusión de lípidos en condiciones de euglicemia e hiperinsulinemia. Los autores se plantearon dos hipótesis: el efecto de los FFAs, en la sensibilidad a insulina, podría ser por disminución en la fosforilación de glucosa o de su transporte.

Para distinguir entre estas dos posibilidades, los autores midieron las concentraciones experimentales intracelulares de glucosa, por NMR, en el músculo de la pantorrilla de los sujetos. Dado que la glucosa intracelular es un intermediario entre el transporte de glucosa y la hexocinasa 2, su concentración reflejaría la actividad relativa de estos dos pasos.

En mamíferos existen 4 isoformas de la

hexocinasa. La hexocinasa 2 se encuentra en músculo, y tejido adiposo, donde cataliza la fosforilación de glucosa a G6P, el paso limitante en la disposición de glucosa. La enzima es inhibida por la acumulación de este producto [King, 2011 (d)]. La glucosa que entra a la célula es rápidamente fosforilada por la hexocinasa, por lo que la concentración intracelular de glucosa “libre” no incrementa a medida que el azúcar es captada por la célula [Fraser-Reid y cols., 2001].

Los autores encontraron disminución de la glucosa intracelular en el grupo infundido con lípidos en comparación con el control. Este dato indica que un efecto importante de los FFAs en la resistencia a insulina es afectar el transporte de glucosa [Dresner y cols., 1999].

2.3.2 Exceso de FFAs en el organismo

Después de la ingesta de grasas, en condiciones fisiológicas, mecanismos coordinados entran en acción para minimizar la liberación de TGs a plasma en el estado postprandial. Así, en el tejido adiposo, la insulina activa a la lipoproteína lipasa, encargada de hidrolizar a los TGs de las lipoproteínas para su re-esterificación, y suprime la liberación de los FFAs. En la RI cada uno de estos pasos se ve afectado, lo que resulta en la liberación exacerbada de TGs al plasma en el estado postprandial [Frayn, 2002].

Por otra parte, se cree que existen dos principales fuentes endógenas de grasas que contribuyen al aumento de FFAs en plasma: los depósitos de grasa subcutánea y el tejido adiposo visceral [Koutsari y Jensen, 2006]. Se considera que éste último podría tener mayor impacto en la resistencia a insulina, pues su eliminación mejora notablemente la sensibilidad a insulina [Wilding, 2007].

Es necesario considerar que el rango normal de FFAs en ayunas es particularmente amplio (209- 720 μ M), por lo que, el desbalance crónico

entre liberación/captación de energía y oxidación, ambos a nivel sistémico y en tejidos individuales, resultaría finalmente en la acumulación excesiva de lípidos. En otras palabras, el desbalance entre oferta y demanda de energía podría con el tiempo contribuir a la acumulación ectópica de lípidos [Savage y cols., 2007]. La evidencia apunta a que la acumulación ectópica de grasa en corazón, músculo esquelético e hígado, relacionada con los altos niveles de FFAs en plasma, es una de las principales causas de la resistencia a insulina.

En relación a lo anterior, en un estudio en ratones alimentados con dietas altas en grasas (250 g/kg), donde la dieta enriquecida en FAs de cadena larga (predominantemente C16:0, 75%, y C18:1, 13%) induce una gran acumulación ectópica de lípidos, en el músculo esquelético e hígado de los ratones. Los animales alimentados con una dieta rica en FAs de cadena media (C8:0, 37% y C10:0, 55%) mostraron una acumulación ectópica de lípidos mínima, sin embargo, ambos grupos desarrollaron RI [De Vogel-van den Bosch y cols., 2011].

Los FAs de cadena media no requieren carnitina para su transporte a la mitocondria [Tvrzicka y cols. 2011], por lo que su oxidación es preferida sobre los FAs de cadena larga, ocasionando la acumulación de estos últimos. La composición de la dieta contribuye entonces a los efectos de los FFAs en la sensibilidad a insulina.

2.3.3 El consumo excesivo de grasas provoca inflexibilidad metabólica e incremento en la β -oxidación en músculo: preludeo para la RI

Algunos autores han propuesto la idea de inflexibilidad metabólica, que se define como una alteración de la capacidad para ajustar apropiadamente el metabolismo del estado de saciedad (predominante oxidación de carbohidratos) al metabolismo del ayuno

(predominantemente oxidación de lípidos), lo que tipifica a la obesidad y a la resistencia a insulina [Savage y cols., 2007].

En sujetos obesos y resistentes a insulina (no diabéticos), se han observado alteraciones en el funcionamiento de la mitocondria en músculo esquelético. Algunos son atribuidos a la herencia genética y otros podrían ser adquiridos, debido al incremento en el contenido intracelular de lípidos y a la RI. En el último caso, la alteración de la oxidación de FAs en la mitocondria de músculo, parece ser el evento desencadenante de la inflexibilidad metabólica [Savage y cols., 2007].

En condiciones de ayuno, la oxidación de los FAs inicia con su activación en el citoplasma. El resultado es la formación de un ácido graso acil-CoA. Este es transportado a la mitocondria como un intermediario de acil-carnitina que es formado por acción de la carnitina palmitoiltransferasa 1 (CPT-1), una enzima que reside en la membrana interna mitocondrial. Dentro de la mitocondria, la CPT-2 cataliza la regeneración del ácido graso acil-CoA, después prosigue la β -oxidación [King, 2011 (b)].

En ratones alimentados con una HFD por 12 semanas, que desarrollaron obesidad y RI, Koves y cols. (2008) encontraron en el plasma, durante el estado de saciedad, altos niveles de acil-carnitinas derivadas de lípidos (acil-carnitinas de cadena larga). Las acil-carnitinas pueden atravesar la membrana mitocondrial, y ser exportadas a la sangre. Entonces, la concentración intracelular de ácidos grasos, y los derivados de su β -oxidación incompleta es tan alta que “para evitar la toxicidad” son exportados.

En ayuno o después del ejercicio, los FFAs son hidrolizados en el músculo esquelético [Greenway, 2005], este tejido actúa también como el principal reservorio de carnitinas libres.

Por ello Koves y cols. determinaron el perfil de acil-carnitinas en músculo, encontrando en los ratones alimentados con la HFD una marcada acumulación de acil-carnitinas en el músculo gastrocnemio. Esto nuevamente indica la saturación de los mecanismos de uso de ácidos grasos y el cambio aparente en las preferencias del combustible a utilizar.

Al tratar de mimetizar el periodo de sobrealimentación en humanos, los autores utilizaron un modelo donde los ratones se alimentaron con la HFD por un año. En este modelo, encontraron que la cantidad de acil-carnitinas de ácidos grasos permaneció elevada en músculo esquelético. De forma similar, en ratas Zucker (ZDF), que son modelos de diabetes y obesidad, encontraron acumulación de acil-carnitinas en músculo [Koves y cols., 2008], los autores correlacionaron el incremento del catabolismo incompleto de FAs con la resistencia a insulina.

A grandes rasgos, la β -oxidación consta de 4 pasos: oxidación, hidratación, una segunda oxidación y escisión. La primera oxidación se lleva cabo por una familia de acil-CoA deshidrogenasas. Cada una posee una especificidad por el sustrato, determinada por la longitud del FA. Los siguientes pasos requieren de CoA. La adición de agua es catalizada por la enoil-CoA hidratasa, la segunda oxidación es catalizada por la 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa, y la escisión, que genera los productos finales, acil-CoA y acetil-CoA, es catalizada por una tiolasa. La acetil-CoA entra al ciclo de Krebs, donde es oxidado a CO₂ para generar NADH, FADH y ATP [King, 2011 (a)].

En el experimento arriba mencionado con ratas ZDF se encontró que los niveles de RNAm de varios genes involucrados en el catabolismo de ácidos grasos aumentaron, como la CPT1, la

acil-CoA deshidrogenasa de cadena media, la 3-cetoacil-CoA tiolasa y la cinasa 4 de la piruvato deshidrogenasa, en comparación con animales no obesos. Estos datos apoyan el hallazgo de que el desarrollo y progresión de la resistencia a insulina, correlaciona con catabolismo exacerbado de ácidos grasos en la mitocondria de músculo [Koves y cols., 2008].

Por otro lado, encontraron en el músculo de ratas alimentadas con HFD bajos niveles de lactato, citrato, malato y succinato. A la vez, hallaron una tendencia similar en músculo (con excepción del succinato) del gastrocnemio de ratas ZFD. Esto demuestra que en tejido muscular resistente a insulina (por lípidos) se ven disminuidos algunos intermediarios del ciclo de Krebs [Koves y cols., 2008].

El ciclo de la glucosa-ácidos grasos establece la competencia entre glucosa y ácidos grasos para su oxidación en músculo y tejido adiposo. Es pues, un mecanismo bioquímico que controla la selección de la fuente de energía y adapta la oferta y demanda de sustrato en tejidos, en coordinación con hormonas, controlando las concentraciones de sustrato en la circulación [Hue y Taegtmeyer, 2009].

En preparaciones de cuádriceps femoral de ratones alimentados con la HFD, los autores encontraron aumento en el catabolismo incompleto de grasas, en comparación con aquellos con la dieta convencional. En estos últimos, la incubación de la mitocondria con piruvato más oleato causó una inhibición apropiada y robusta de la oxidación de oleato, consistente con la conmutación del sustrato predicha por el ciclo de los ácidos grasos-glucosa. Este cambio fue casi nulo en la mitocondria de ratones con la HFD. Es decir, la mitocondria de animales obesos es incapaz de ajustar el flujo de ácidos grasos en respuesta al estatus nutricional,

lo que da lugar a la β -oxidación incompleta y exacerbada [Koves y cols., 2008].

Por otra parte, al incubar miotubos L6, pretratados con ácidos grasos (500 μ M) con o sin carnitina 1mM, seguidos de glucosa e insulina, encontraron que la oxidación de glucosa y la síntesis de glucógeno disminuyeron en 40-50% y únicamente en presencia de carnitina [Koves y cols., 2008]. Es decir, el aumento en la entrada de los FAs a la mitocondria es importante en la alteración de la homeostasis de glucosa.

Al impedir la entrada de FAs a la mitocondria, inhibiendo a la CPT-1, se protegen las células de los efectos deletéreos de los FA sobre el uso de glucosa, lo que sugiere una relación importante entre la β -oxidación exacerbada y la resistencia a insulina. De manera similar, en un modelo genético *in vivo* de inhibición parcial de la CPT-1, la alimentación con la HFD no afectó la sensibilidad a insulina y disminuyó la velocidad de β -oxidación, aún en presencia de altos niveles de lípidos intramusculares. Entonces, la supresión de la entrada de FAs a la mitocondria protege contra la resistencia a insulina, inducida por altos niveles de FFAs [Koves y cols., 2008].

En síntesis, la alta tasa de catabolismo de FAs en músculo resistente a insulina se atribuiría, a la oxidación incompleta de grasas; por fallas en la conmutación del sustrato energético y por reducción de varios intermediarios del ciclo de Krebs [Koves y cols., 2008].

2.3.4 Estrés oxidante, FFAs y RI

Definición de estrés oxidante y especies reactivas

El desbalance entre oxidantes y antioxidantes, en favor de los primeros, es denominado "estrés oxidante". Los oxidantes son productos normales del metabolismo aeróbico, pero pueden ser producidos en altas concentraciones bajo condiciones fisiopatológicas. Las especies oxidantes reactivas pueden dividirse en radicales

libres (moléculas con un electrón desapareado) y oxidantes no radicales [Sies, 1997]. En este trabajo describiremos sólo de las acciones relacionadas a las especies reactivas de oxígeno (ROS).

Existen varias fuentes de ROS dentro de una célula. Estas fuentes pueden ser divididas en general en dos categorías principales. Primero, están aquellos procesos que generan ROS como subproductos, o como productos de desecho de otras reacciones necesarias, y en segundo lugar, están los procesos que generan ROS por síntesis o por descomposición molecular como parte de una vía de señalización o como parte de mecanismos de defensa celular (**Fig. 5**). En la primera categoría, la mitocondria es la fuente principal de ROS, debido a que durante la fosforilación oxidativa se pierden electrones durante su transferencia entre los complejos de la cadena de transporte de electrones. Estos electrones reaccionan con oxígeno molecular para producir ROS [Morgan y Liu, 2011].

En la segunda categoría de fuentes de ROS, existen varias enzimas que las generan, aunque no tan robustamente como la NADPH oxidasa fagocítica, NOX2. La NOX2 utiliza NADPH para

reducir oxígeno molecular, produciendo así al anión superóxido que es convertido en los fagosomas en ácido hipoclorhídrico (HOCl) por la superóxido dismutasa y la mieloperoxidasa. El HOCl es una herramienta de defensa contra los patógenos. Sin embargo, durante este proceso ocurren algunas filtraciones de ROS hacia el citosol, contribuyendo al estrés oxidante de la célula [Morgan y Liu, 2011].

La acumulación tóxica de ROS y la oxidación celular son contrarrestadas por enzimas como las superóxido dismutasas, la catalasa y las peroxiredoxinas, así como por sistemas de antioxidantes y sus enzimas asociadas, como la tioredoxina (Trx) y los sistemas de glutatión. Estos sistemas además parecen actuar como sensores oxidantes en vías de señalización en respuesta a las ROS [Morgan y Liu, 2011].

La definición de estrés oxidante también está en función de sus consecuencias en la célula: el daño macromolecular y la disrupción de circuitos redox tiol. Este último da lugar a señalización aberrante y control redox disfuncional. El daño macromolecular se refiere a alteraciones moleculares por mecanismos oxidantes ligados a radicales libres. Las proteínas que contienen grupos tiol, que funcionan en la señalización redox y la regulación fisiológica, son susceptibles a la oxidación por “dos- electrones” llevada a cabo por oxidantes no radicales, incluyendo H₂O₂, hidroperóxidos de lípidos, aldehídos, quinonas y disulfidos. La oxidación anormal, o la modificación irreversible, puede interferir con las reacciones reversibles redox de tioles, de moléculas involucradas en la señalización de receptores, de la regulación transcripcional, de la proliferación celular, de angiogénesis y de apoptosis [Jones, 2008].

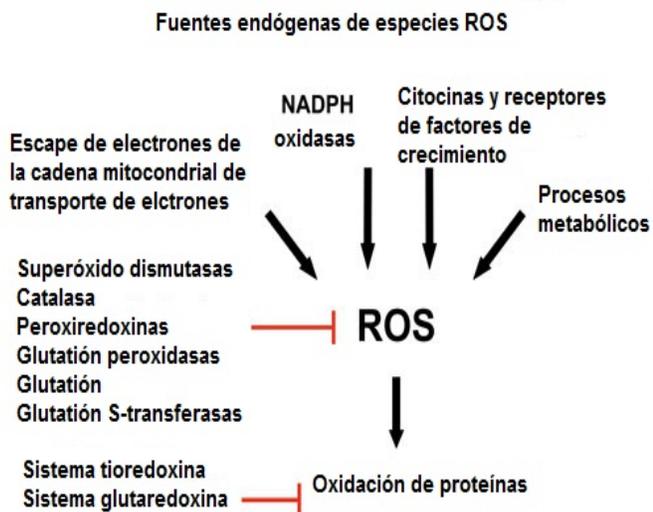


Fig. 5 Fuentes de ROS
[Modificado de Morgan y Liu, 2011]

2.3.4.1 Las ROS están implicadas en la RI

En la última década, se ha reconocido el papel

del estrés oxidante en estados de resistencia a insulina. Se ha observado en el curso de ésta, la elevación de marcadores de estrés oxidante, la disminución del estatus antioxidante en plasma y la alteración de los sistemas de defensa antioxidante [Bonfont-Rousselot, 2000].

En modelos animales, la inducción de la sobreproducción de ROS o la inhibición de sistemas antioxidantes, son suficientes para el desarrollo de resistencia a insulina. Por ejemplo, la administración en ratas de la sulfoximina de butionina (BSO), un potente inhibidor de la glutatión sintetasa, promovió la acumulación de metabolitos fuertemente oxidantes que correlacionan con el desarrollo de resistencia a insulina; a nivel sistémico, en hígado y en músculo esquelético [Hoehn y cols., 2009].

En relación a la obesidad, en ratones *db/db* (obesos) con resistencia a insulina alimentados con una dieta normal, Gao y cols. (2010) encontraron, altos niveles de FFAs en plasma, acumulación de lípidos y aumento de ROS, en hígado. Esto muestra una relación entre los elevados niveles de FFAs en plasma, el estrés oxidante y la RI en la obesidad. Los autores encontraron en hepatocitos HepG2 que la concentración de ROS fue dependiente de la dosis y del tiempo de exposición al palmitato 0.25 mM.

Por otra parte, un proceso importante en la regulación de los niveles de glucosa en sangre es la gluconeogénesis hepática. La enzima fosfoenolpiruvato carboxicinasa (PEPCK) cataliza uno de los pasos más importantes de la gluconeogénesis, contribuyendo a la mayor producción de glucosa hepática. En el estado postprandial la insulina suprime este proceso. La expresión de PEPCK es suprimida por la acción de la Akt, estimulada por insulina, y el factor de transcripción FOXO1. Entonces, la inhibición de

Akt provocaría la sobreexpresión de PEPCK, lo que incrementaría la gluconeogénesis hepática y los altos niveles de glucosa en sangre [Postic y cols., 2004].

En el estado postprandial la insulina también estimula la glucogenogénesis. La glucógeno sintetasa (GS) es la enzima limitante de la síntesis de glucógeno [Postic y cols., 2004]. Ésta es inactivada por fosforilación, por la glucógeno sintetasa cinasa- 3 (GSK-3). La GSK-3 es inactivada por la fosforilación estimulada por insulina [Ali y cols., 2001].

En las células HepG2, tratadas con palmitato e insulina y glucosa, Gao y cols. (2010) hallaron bajos niveles de glucógeno y altos niveles de gluconeogénesis. A la vez, encontraron inhibición de Akt, y activación de la GSK, del factor de transcripción FOXO1 y de PEPCK. Así, las ROS, inducidas por altas concentraciones de FAs en hepatocitos, contribuirían a la disrupción de la señalización de insulina responsable de controlar la síntesis de glucógeno y la gluconeogénesis (**Fig. 6**) [Gao y cols., 2010].

Hoehn y cols. (2009) encontraron en adipocitos 3T3-L1, que el palmitato disminuyó en 50% la traslocación a membrana del transportador GLUT4, en presencia de insulina, y aumentó la producción del ión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) en la mitocondria. Esto sugirió una relación entre la resistencia a insulina y la sobreproducción mitocondrial de ROS.

A través del proceso de generación de ROS mitocondrial se genera ion superóxido. Este es convertido rápidamente a H_2O_2 por las enzimas SOD1 y la SOD2, el producto difunde inmediatamente al citosol, donde es eliminado por otras enzimas antioxidantes [King, 2011 (e)].

Hoehn y cols. (2009), incubaron miotubos L-6 tratados con palmitato 0.15 mM, y tras 12 h (cuando se ha desarrollado RI) agregaron al

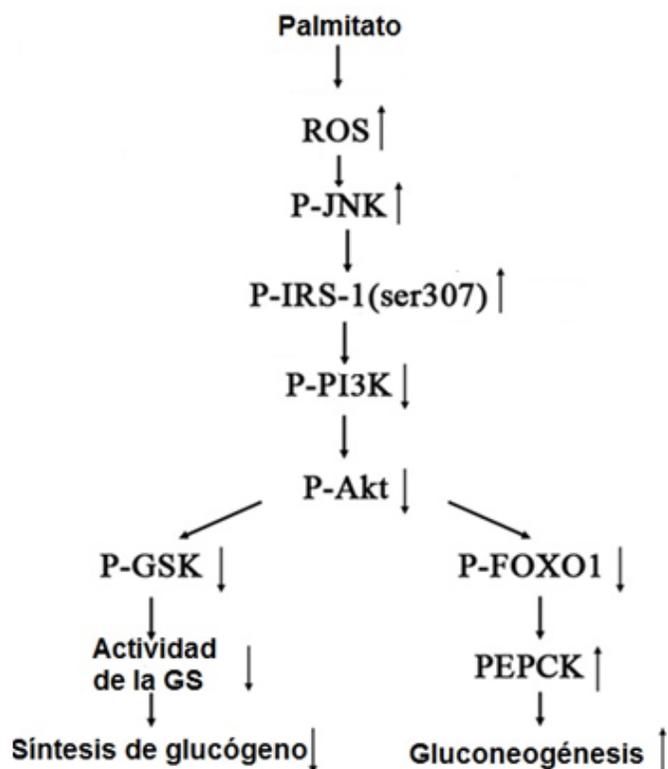


Fig. 6 Mecanismos propuestos para la RI inducida por palmitato en células HepG2. Las altas concentraciones de palmitato estimulan la producción excesiva de ROS activando la vía de JNK. La RI hepática lleva a la inhibición de la síntesis de glucógeno y la falla en la supresión de la gluconeogénesis. [Modificado de Gao y cols., 2010]

cultivo agentes que inhiben a la fosforilación oxidativa. Encontraron que estos tratamientos revirtieron completamente el efecto negativo del palmitato en la traslocación del transportador GLUT4. Comprobaron que la disminución de la cantidad de ROS mitocondriales fue dependiente de la concentración de los inhibidores, lo cual indica que la mitocondria es la principal fuente de ROS en la resistencia a insulina inducida por FFAs.

La importancia de la generación de ROS mitocondriales *in vivo* en la RI también se ha investigado. Estos mismos autores administraron vía i.p. de manera aguda manganeso 5, 10, 15, 20-tetrakis (4-ácido benzoico) porfirina (Mn TBAP), un mimetizador de la acción antioxidante de la SOD, a ratones sometidos a una dieta alta en grasas.

Encontraron que el antioxidante provocó una mejora significativa en la sensibilidad periférica a insulina, en músculo y tejido graso. Es así que propusieron al ión superóxido como un blanco corriente arriba en la resistencia a insulina, cuya producción excesiva es una respuesta al exceso de nutrientes, específicamente de ácidos grasos. Asimismo, la mitocondria parece ser un sitio de acción fundamental para el desarrollo de esta condición metabólica [Hoehn y cols., 2009].

2.3.4.2 La RI inducida por HFD es efecto del cambio en el estado redox en el músculo esquelético

Anderson y cols. (2009) demostraron que el potencial de emisión mitocondrial de H₂O₂ en músculo esquelético, puede elevarse marcadamente en tan solo tres días por aumento de grasas en la dieta.

En el estrés oxidante, la velocidad de oxidación de la forma reducida del glutatión (GSH) es mayor que la velocidad de reducción, provocando que la forma oxidada del glutatión (GSSG) se acumule en el interior de la célula [Schafer y Buettner, 2001]. En el músculo esquelético de ratas con HFD, el cociente GSH/GSSG se redujo en ~50% en el ayuno y cayó en respuesta a la ingesta de glucosa, en comparación a los controles. Esto es consistente con un incremento superior en el GSSG por incremento en la emisión de H₂O₂ mitocondrial, generado por el aumento en disponibilidad y oxidación de glucosa. [Anderson y cols., 2009]. Lo que sugiere que las dietas altas en grasas comprometen la capacidad amortiguadora redox de la célula.

El tratamiento de las ratas HFD con un antioxidante, de acción localizada en la mitocondria, previno completamente el incremento de GSSG y la caída del GSH/GSSG, en respuesta a la ingesta de glucosa. Esto sugiere que el cambio en el estado redox

es mediado por la liberación de H_2O_2 por la mitocondria. Además, las ratas alimentadas con la HFD desarrollaron resistencia a insulina y el tratamiento con el antioxidante alivió este estado. Lo que sugiere que la sobreproducción de ROS mitocondriales está relacionada directamente con la RI [Anderson y cols., 2009].

Por otra parte, en biopsias de músculo de humanos, la emisión mitocondrial de H_2O_2 fue aproximadamente dos veces mayor en hombres obesos (resistentes a insulina) vs no obesos (sensibles a insulina) en respuesta a una valoración con succinato, y cerca de cuatro veces mayor durante la respiración basal sostenida por ácidos grasos [Anderson y cols., 2009], lo cual correlaciona a la oxidación preferencial de FAs, sobre la de glucosa, con la RI en la obesidad

Sobre los efectos a corto plazo, en sujetos normales, se obtuvieron biopsias de músculo antes e inmediatamente y 5 días después del consumo de un alimento alto en grasas (60- 65% de grasa). Después del consumo del alimento alto en grasas, la producción mitocondrial de H_2O_2 se incrementó en más de dos veces. En la valoración de la respuesta a succinato o durante la respiración sostenida por palmitoil-carnitina más malato, el contenido celular de GSH/GSSG disminuyó en ~50%, y permaneció así durante la dieta de 5 días. Esto refleja un cambio en el estado redox hacia un estado más oxidado. Estos hallazgos muestran que la emisión mitocondrial de H_2O_2 y el estado redox celular en el músculo esquelético, son marcadamente sensibles a la ingesta de lípidos de la dieta [Anderson y cols., 2009].

De los datos anteriores se deducen tres hallazgos principales: primero, la emisión mitocondrial de H_2O_2 y el estado oxidante son la causa fundamental de la resistencia a insulina inducida por la HFD en músculo. Segundo, el

estado redox de la célula es muy sensible al consumo nutricional. Se genera un estado más oxidado en respuesta a la ingestión aguda de glucosa y crónica de HFD. Tercero, la ingesta de la HFD incrementa el potencial de emisión máximo de H_2O_2 de la mitocondria en músculo esquelético [Anderson y cols., 2009].

3. Vía inflamatoria de la RI inducida por FFAs

3.1 La respuesta inflamatoria

La respuesta inflamatoria puede ocurrir en respuesta a tres eventos: a la infección, en la respuesta del tejido al daño y en respuesta a alteraciones metabólicas. Estos estados convergen en alteraciones a la homeostasis, y el tercer tipo de respuesta ha sido propuesto recientemente para explicar el papel de la inflamación en las enfermedades metabólicas [Hotamisligil, 2006].

Una vía inflamatoria genérica comprende inductores, sensores, mediadores y efectores, en donde cada componente determina el tipo de respuesta inflamatoria. Los inductores son señales que inician la respuesta inflamatoria y activan a sensores especializados. Los sensores promueven la producción de un conjunto de mediadores específicos. Los mediadores, a su vez, alteran el estado funcional de tejidos y órganos, que son los efectores de la inflamación. La respuesta será de una manera que les permita adaptar las condiciones de acuerdo al inductor particular que generó la inflamación [Medzhitov, 2008].

El propósito de la respuesta inflamatoria es remover o secuestrar la fuente de la perturbación, para permitir al hospedero adaptarse a las condiciones anormales y restablecer la función y homeostasis del tejido. Si las condiciones anormales son temporales, entonces una respuesta inflamatoria aguda exitosa vuelve al sistema al estado homeostático basal. Si por

el contrario, las condiciones anormales son sostenidas, entonces un estado inflamatorio continuo torna al sistema a diferentes puntos de ajuste, como ocurre durante la inflamación crónica [Medzhitov, 2008].

3.1.1 Activación de la respuesta inflamatoria

Los inductores iniciadores de la respuesta inflamatoria pueden dividirse en exógenos y endógenos. Los endógenos son señales inducidas por estrés, daño u otros defectos en la función de tejidos. Las identidades y características de estas señales están pobremente definidas, pero pertenecen a varias clases funcionales de acuerdo a la naturaleza y grado de las anomalías en los tejidos en los que se presentan [Medzhitov, 2008].

Los inductores exógenos, se dividen en microbianos y no microbianos. Los no microbianos incluyen a alérgenos, irritantes, cuerpos extraños y compuestos tóxicos. Sus sensores son desconocidos en gran parte. Los exógenos microbianos son conformados, en parte, por los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Los PAMPs son reconocidos por receptores en el hospedero, llamados receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) [Medzhitov, 2008].

Unos de los PRRs más importantes en la inflamación son los receptores tipo toll (TLRs). El receptor Toll fue identificado originalmente en *Drosophila*. Posteriormente, se encontró un homólogo en mamíferos, el TLR4, que mostró inducir la expresión de genes involucrados en las respuestas inflamatorias. La familia de los TLRs ahora consta de 10 miembros (TLR1- TLR10) [Kawai y Akira, 2006].

Los TLRs activan una vía de señalización en común que culmina con la inducción de citocinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), interleucina (IL)-6, IL-1 β e IL-12, entre

otras. Esto sucede a través de la activación del factor nuclear kapa beta (NF κ B) y de la proteína activadora- 1 (AP-1) [Kawai y Akira, 2006].

3.2 La implicación del NF κ B en la RI

3.2.1 El NF κ B

La regulación de la expresión de genes en función de las necesidades de la célula, y finalmente del organismo, está sujeta a una compleja señalización que conlleva, en muchos casos, a la activación de proteínas denominadas factores de transcripción que se unen al DNA para promover la transcripción, de manera positiva o negativa, de un conjunto determinado de genes. Para ejercer su actividad, los factores de transcripción contienen una región responsable de la unión a DNA y otras regiones que promueven los efectos activadores o inhibidores de la transcripción [Latchman, 1997].

Dentro de los factores de transcripción más importantemente involucrados en la inflamación se encuentra el NF κ B. Éste es un dímero compuesto por las proteínas RelA y p50 que se une a los sitios κ B del DNA. La actividad del NF κ B está sometida a un estricto mecanismo regulatorio, el cual está regido por la interacción con las proteínas inhibidoras I κ B. Generalmente, estas interacciones cubren la señal de localización nuclear del dímero e interfieren con las secuencias involucradas en la unión a DNA. En la mayoría de las células, el NF κ B está presente en una forma latente inactiva, formando un complejo con I κ Bs en el citoplasma [Gilmore, 2006].

Existen dos, y posiblemente tres, vías activadoras del NF κ B. Las dos vías mejor descritas son las llamadas canónica o clásica y no canónica o alternativa. El paso regulatorio corriente arriba común a estas vías es la activación de un complejo I κ B cinasa (IKK), éste consiste de las subunidades catalíticas IKK α e IKK β y de una proteína sensora llamada modulador

esencial del NFκB (NEMO). La IKK fosforila al inhibidor IκB para promover su degradación, lo que permite la entrada al núcleo del NFκB que activa la expresión de genes específicos (**Fig. 7**) [Gilmore, 2006].

Finalmente, los genes regulados por NFκB incluyen a aquellos que controlan la apoptosis, la adhesión celular, la proliferación, la respuesta inmunológica innata y adaptativa, la inflamación, la respuesta a estrés celular y la remodelación de tejido. Sin embargo, la expresión de estos genes está estrictamente coordinada con la actividad de muchas otras vías de señalización y factores de transcripción. Por lo tanto, el resultado de la activación del NFκB depende de la naturaleza y contexto celular de su inducción [Perkins, 2007].

3.2.2 Los FFAs originan una respuesta inflamatoria a través de la vía IKK/NFκB

Boden y cols. (2005) encontraron en el hígado de ratones infundidos con lípidos y heparina, una activación de IKKβ y NFκB. Esto revela

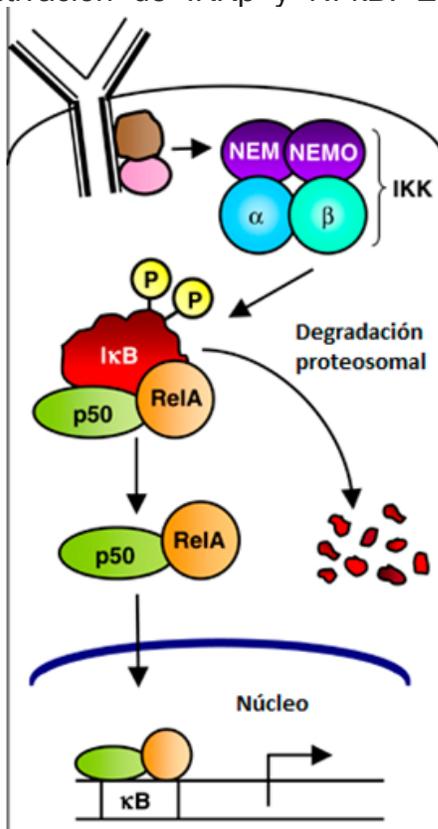


Fig. 7 Vía clásica de NFκB
[Modificado de Gilmore, 2006].

que los FFAs activan la vía del NFκB. También observaron en hígado aumento en la expresión del TNF-α, IL-6 e IL-1β, que son citocinas inflamatorias dependientes del NFκB. Por lo tanto, la activación de la vía IKK/NFκB, debida a los altos niveles de FFAs y/o de sus metabolitos, promovería un estado inflamatorio en hígado que podría propagarse a otros tejidos.

La activación de IKKβ requiere de la degradación de la subunidad NEMO, lo que permite su fosforilación en la Ser177 y la Ser181 [Perkins, 2007]. Algunos autores plantean que las PKCs, que son cinasas de serina/treonina, pueden activar a IKKβ [Altman y cols., 2000]. Boden y cols. demostraron que las altas concentraciones de FFAs en plasma incrementan la concentración de diacilglicerol (DAG) y la activación de PKCδ en el hígado de ratas [Boden y cols., 2005]. Ésta cinasa pertenece al grupo de PKCs novel y es activada por DAG y por fosfolípidos [Rosse y cols., 2010], de manera que metabolitos de los FFAs activarían a IKKβ a través de la activación de PKCs en hígado.

En adipocitos 3T3-L1 incubados con ácido linoléico, se ha relacionado la actividad de IKKβ con la de PKCθ, otra PKC novel. A este respecto, Gao y cols. (2004) al inhibir a la PKC lograron prevenir la activación de IKK.

En el músculo sóleo, de ratas infundidas con lípidos/heparina, han encontrado aumento en el contenido de DAG y activación de PKCθ (Yu y cols. 2002), aunque no una correlación con la activación de IKKβ por FFAs. Lo anterior sugiere que la PKCθ podría ser el mediador de la RI inducida por FFAs.

Por otro lado, en el plasma de ratas con altas concentraciones de FFAs, se ha observado un aumento en el nivel de la proteína 1 quimiotáctica de monocitos (MCP-1) [Boden y cols., 2005]. Ésta proteína interviene en el reclutamiento de

macrófagos y, en modelos animales de obesidad y RI, se le ha relacionado importantemente con la infiltración de macrófagos al tejido adiposo [Kanda y cols., 2006]. Es más, en adipocitos 3T3-L1 se ha encontrado que la incubación con ácido esteárico ó palmítico induce la secreción del MCP-1, asociada a la activación del NFκB [Schaeffler y cols. (2009)]. De tal manera que se ha sugerido que el MCP-1 participaría en la propagación del estado inflamatorio al resto del organismo.

Por otra parte, Cai y cols. (2005) observaron también la activación de IKKβ/NFκB y la producción de citocinas inflamatorias en el hígado de ratas alimentadas con una HFD. Estos animales, además desarrollaron obesidad y RI. Esto indica que las HFD inducen estados inflamatorios en el hígado, mediados por citocinas dependientes de IKKβ/NFκB, y esto daría origen a la RI en este órgano y a nivel sistémico.

Para comprobar esta hipótesis, Cai y cols. (2005) obtuvieron ratones transgénicos con expresión constitutiva de la forma activa de IKKβ en hepatocitos. Estos ratones, desarrollaron RI sistémica, en hígado y en músculo esquelético. Sin embargo, los RNAm codificantes para las citocinas inflamatorias sólo aumentaron en hígado. Otro hallazgo interesante fue que la sensibilidad periférica a insulina disminuía a medida que aumentaba la activación del NFκB en hígado, lo cual sugiere que el desarrollo de RI inducida por inflamación es dependiente de la actividad del NFκB [Cai y cols., 2005].

Una de las células más importantes en la producción de citocinas inflamatorias son los macrófagos [Benítez-Guzman et al, 2011], por lo que resulta indispensable investigar si los FFAs pueden regular la actividad de éstas células. Se ha encontrado que al estimular a los macrófagos RAW264.7 con una mezcla de oleato/palmitato,

se induce la expresión y secreción de IL-6 y del TNF-α [Shi y cols., 2006].

En estas células, varios FAs saturados (C12:0, C14:0, C16:0 y C18:0) aumentaron importantemente la expresión de los marcadores de inflamación, mientras que el tratamiento con DHA no estimuló la producción de citocinas. Incluso, el pretratamiento de las células con este PUFA inhibió la expresión del TNF-α inducida por FAs saturados [Shi y cols., 2006]. Por tanto, la composición de FAs de la dieta regula la sensibilidad a insulina a través de la producción de citocinas inflamatorias o antiinflamatorias.

Otras células que producen citocinas inflamatorias son los adipocitos, actualmente se sabe que estas células interactúan de manera sinérgica con los macrófagos residentes en tejido adiposo [Lee y cols., 2009]. En relación a lo anterior, Bradley y cols. (2008) observaron en adipocitos 3T3-L1 incubados con ácido palmítico, la sobreproducción del TNF-α. Al mismo tiempo, hallaron una disminución del 75% en la expresión de IL-10, una citocina anti-inflamatoria. Semejante a lo encontrado en macrófagos, observaron el aumento correspondiente en la activación del NFκB al tratarlos con ácido palmítico y la inhibición de la vía cuando el ácido graso fue el DHA [Bradley y cols., 2008].

3.2.3 La activación de la vía IKKβ/NFκB bloquea la señalización de insulina

En esta sección del trabajo se discutirá la relación entre la inhibición de la señalización de insulina y los mediadores de la inflamación como posible mecanismo por el cual los FFAs causan la RI.

Uno de los eventos en respuesta a la activación del receptor de insulina (IR) es la asociación del IRS-1 con PI3K a través de la subunidad reguladora p85, de esta última [Najjar, 2001]. La inhibición de ésta vía a nivel de señalización es

una de las características más importantes en la resistencia a insulina. Dresner y cols. (1999), aportaron evidencias de la disminución en la actividad de la PI3-K asociada a IRS-1 en el músculo esquelético de sujetos sanos infundidos con lípidos/heparina.

Arkan y cols. (2005) encontraron en el hígado de ratas con HFD estimuladas por insulina, aumento de citocinas inflamatorias y disminución tanto en la asociación de p85 con IRS1 como de la fosforilación de Akt. Los ratones carentes de IKK β en hepatocitos (*Ikkkb^Δhep*) desarrollaron protección contra estos efectos, lo anterior sugiere que IKK β contribuye, en parte, a la disrupción en la señalización de insulina en hígado generada por dietas altas en grasas.

Se ha descrito que mediadores inflamatorios como el TNF- α inducen la activación de IKK β y la fosforilación en la Ser307 del IRS-1 en células HepG2 y adipocitos 3T3-L1. Incluso, se ha comprobado que la fosforilación de IRS es dependiente de la activación de IKK β . Cabe mencionar que la fosforilación de la Ser307 en IRS inhibe la señalización de insulina [Gao y cols., 2002], de tal manera que la activación de IKK β inducida por FFAs, inhibiría la señalización de insulina al nivel del IRS-1.

Otras evidencias que apoyan la participación de elementos de la vía IKK/NF κ B en la señalización de insulina se obtuvieron en experimentos con hepatocitos aislados donde se inhibió al NF κ B con un adenovirus superrepressor. Al incubar estas células con IL-1 β , inductor del NF κ B, e insulina se observó un aumento en la fosforilación del IR y en la asociación de IRS1/p85, en comparación con los hepatocitos control [Arkan y cols., 2005].

Por otra parte, en células mieloides de ratones carentes de IKK β (*Ikkkb^Δmye*) sometidos a una HFD por 20 semanas, se encontró una mejor sensibilidad a insulina en hígado y a nivel

sistémico, en comparación con los ratones WT. Estos datos indican que la IKK β , activada por FFAs, es mediadora de la RI global a través de su activación en células mieloides e hígado de manera directa, y de manera indirecta por la sobreproducción de mediadores inflamatorios [Arkan y cols., 2005].

En síntesis, los hallazgos presentados muestran la participación clave de IKK β y del NF κ B estimulada por altas concentraciones de FFAs como parte del mecanismo molecular involucrado en la RI.

3.3 JNK: un segundo elemento esencial de señalización en la RI

3.3.1 Las cinasas JNK

La célula responde a cambios en las propiedades físicas y químicas en el ambiente a través de las vías de señalización. Estos cambios incluyen alteraciones en la cantidad de nutrientes, citocinas, etc. Las MAPKs tienen un importante papel regulatorio en las vías de señalización que resultan de los cambios mencionados. Dentro de éstas, están las cinasas del NH₂-terminal de c-Jun (JNKs), y en mamíferos están codificadas por los genes: *jnk1*, *jnk2* y *jnk3* [Davis, 2000].

Las JNKs se activan por fosforilación en Thr y Tyr por la cinasa de la cinasa de MAP (MKK) -4 y por la MKK-7. Tras su activación, las JNKs se unen al NH₂-terminal del dominio de activación de c-Jun, proteína que forma parte del factor de transcripción AP-1. Posteriormente, la fosforilan en la Ser63 y la Ser73, lo que incrementa la actividad transcripcional de la célula. La AP-1 controla varios procesos como la diferenciación, la proliferación y la apoptosis causada por estrés y citocinas [Davis, 2000].

Se ha postulado que las vías de las MAPKs, junto con la vía del NF κ B, son esenciales para las respuestas inflamatorias y al estrés. Algunos de los mediadores inflamatorios que estimulan la

activación de JNKs son el TNF α , la IL-1 y el factor de crecimiento transformante- β (TGF- β). También se sabe que la cinasa 1 activada por TGF- β (TAK1), elemento de señalización corriente abajo de TLR4, es crítica para la activación de JNKs en respuesta a citocinas [Weston y Davis, 2007] (**Fig. 8**).

3.3.2 Los FFAs activan a las JNK para inducir la RI

JNK inhibe la señalización de insulina a través de la inhibición del IRS-1 (Aguirre y cols., 2000) y se ha encontrado en ratones obesos con RI una sobre-activación de JNK en hígado, tejido adiposo y músculo. Al mismo tiempo que, la ausencia de JNK1 en éstos animales muestra clara mejoría en la sensibilidad a insulina [Hirosumi y cols., 2002].

Un hallazgo interesante de Solinas y cols. (2006) fue que el incremento de la JNK asociado a la menor acción de insulina solo se observó en animales obesos. Cuando hay la falta de respuesta a insulina debida a diabetes inducida por aloxano o estreptozotocina no se encontró

la activación JNK,. Se deduce entonces que la sobre-activación de JNK sólo se da en los modelos de resistencia a insulina inducida por altos niveles de FFAs.

En el hígado de ratones C57BL/KsJ-db/db, se ha encontrado que la sobreexpresión de JNK y la alta producción hepática de glucosa, es debida a la mayor expresión de las enzimas gluconeogénicas: PEPCK y Glc6 fosfatasa [Nakatani y cols., 2004]. La actividad de éstas enzimas es regulada por insulina, de manera tal que la sobreexpresión de las enzimas sería una respuesta a contrarrestar la baja sensibilidad a la hormona. Estas respuestas de señalización contribuyen así al sostenimiento de las alteraciones metabólicas manifiestas en la RI.

La señalización responsable de la traslocación del GLUT 4 a la membrana plasmática, incluye la activación del IR y de proteínas IRS. Las IRS a su vez activan a la PI3K, quien promueve la activación de la PDK-1. Ésta última cinasa fosforila y activa a Akt y a PKC ζ o a PKC λ . El funcionamiento adecuado de esta cascada de señalización conduce a la exitosa movilización del GLUT4, a la superficie celular (**Fig. 1**) [Le Roith y cols., 2003].

En adipocitos 3T3-L1 tratados con una mezcla de FFAs (ácido laúrico, mirístico, linoleico, oléico y araquidónico) e insulina, Nguyen y cols. (2005) encontraron la inactivación de varios de los elementos de la cascada de señalización de insulina, particularmente: del IR, del IRS-1, de la Akt y de la PKC λ . Estos eventos correlacionaron con un importante incremento en la actividad de JNK, lo que sugería que los FFAs inhiben la traslocación del GLUT4 a la superficie celular, a través de las acciones de JNK. Al remover a los FFAs de las células, o al inhibir la expresión de JNK, los autores reportaron la recuperación de la respuesta a insulina.

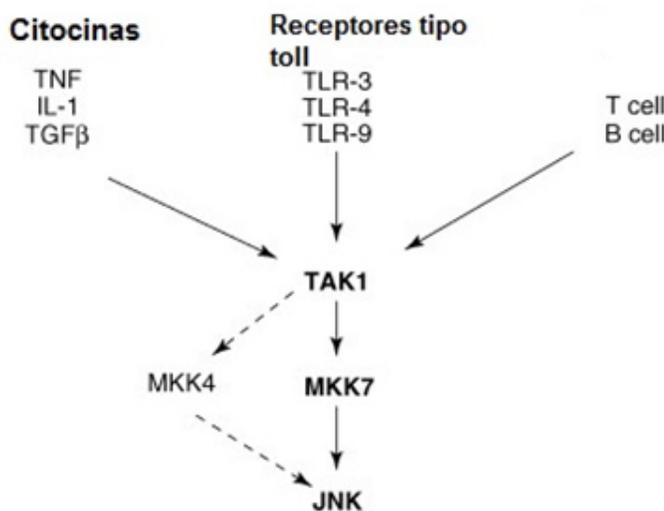


Fig. 8 Activación de JNK.

La activación de JNK es estimulada por citocinas inflamatorias, TLRs y unión de receptores de antígenos [Modificado de Weston y Davis, 2007].

El tratamiento de adipocitos 3T3-L1 con FFAs también incrementó la producción del TNF- α . Al adicionar a las células un anticuerpo para esta citocina, junto con los FFAs, se restableció casi la mitad del transporte de glucosa, pero la neutralización del TNF- α no evitó la baja en la señalización de insulina inducida por los FFAs. Esto sugiere que el TNF- α media algunos de los mecanismos inhibidores del transporte de glucosa pero no interfiere directamente en la señalización de la hormona [Nguyen y cols., 2005].

El TNF- α es un efector corriente abajo en la señalización generada por los FFAs mediada por JNK. Ello lo sugiere el que la neutralización del TNF- α no evite la activación de JNK, pero que la carencia de JNK si disminuya marcadamente la secreción del TNF- α en respuesta a los FFAs [Nguyen y cols., 2005].

En adipocitos 3T3-L1 estimulados con ácido linoleico, se encontró que la activación de JNK y las acciones de JNK sobre IRS fue dependiente de PKCs. De manera que en adipocitos la PKC θ es un mediador importante en la acción de los FFAs vía JNK. Los datos obtenidos *in vitro* concuerdan con las evidencias de los modelos *in situ*, pues ratones sometidos a una HFD y resistentes a insulina muestran altos niveles de PKC θ y bajos de IRS-1 [Gao y cols. 2004].

Oliveira y cols. (2005) encontraron en ratones sometidos a una “dieta occidental” con 46.5% de grasas, resultados similares en cuanto al aumento de TGs y de insulina, RI en músculo e hígado con las alteraciones correspondientes en la vía IRS/PI3K. Este es un modelo cercano a las dietas que dan origen a la obesidad y RI en humanos.

3.4 Las ROS son capaces de activar las vías de JNK y NF κ B

El H₂O₂ es importante en diversas vías de señalización por sus propiedades bioquímicas

oxidantes. El H₂O₂ está presente en todos los sistemas, tiene una vida media relativamente larga y es soluble en ambientes acuosos y lipídicos, siendo capaz de alcanzar sus blancos celulares cuando es aplicado extracelularmente [Shen y Liu, 2006].

El H₂O₂ exógeno (añadido) regula la activación del NF κ B, en parte, a través de la fosforilación en la Tyr42 de I κ B α . La proteína fosforilada en la Tyr42 se une a la subunidad regulatoria p85 de PI3K, de manera que libera al NF κ B permitiendo su translocación al núcleo. (Fig. 9) [Morgan y Liu, 2011].

Por otra parte, el H₂O₂ también puede activar a JNKs. Algunos posibles mecanismos moleculares que se han identificado son: la activación de la MAP3K, denominada ASK1, que activa a JNK y a MAPKp38 (Fig. 10). Parece que ASK1 es un blanco específico de las ROS [Shen y Liu, 2006].

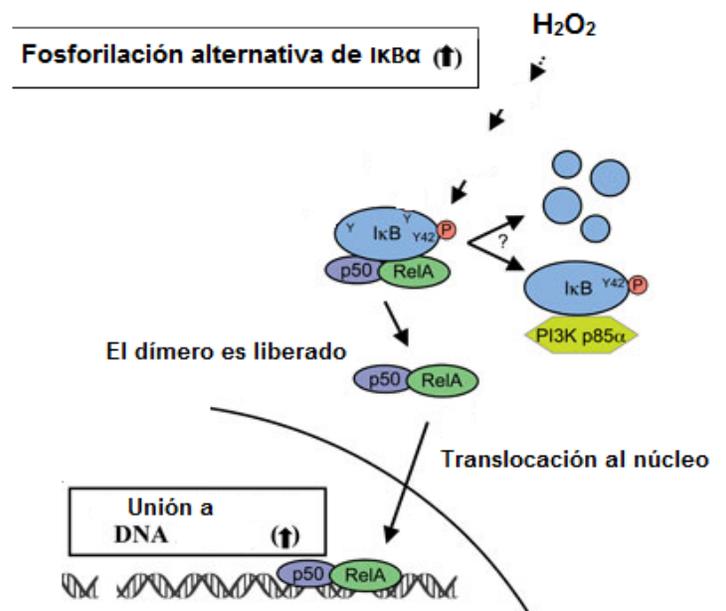


Fig. 9 Comunicación cruzada de ROS con la señalización de NF κ B.

[Modificado de Morgan y Liu, 2011]

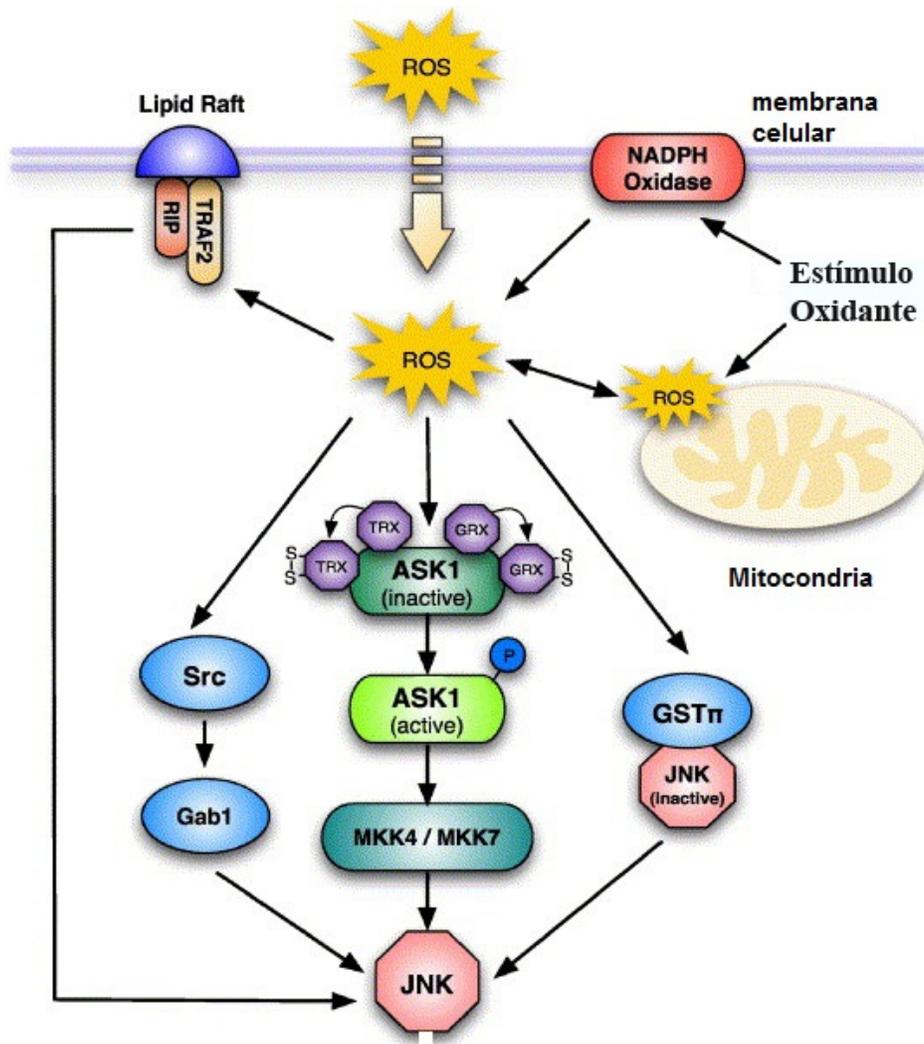


Fig. 10 Vías de señalización de la activación de JNK mediada por ROS de fuentes exógenas y endógenas. (mitocondria y NADPH oxidasa asociada a membrana)
 [Modificado de Shen y Liu, 2006].

3.4.1 La activación de JNK y del NFκB por ROS induce RI.

Ogihara y cols. (2004) encontraron en el músculo esquelético y en hepatocitos de ratas con sobreproducción de ROS, inhibición de la vía IRS-1/PI3K y disminución en la translocación del GLUT4, efecto parecido a los producidos por los FFAs. Dado que el NFκB media estos eventos, Ogihara y cols. inactivaron a este factor de transcripción en adipocitos 3T3-L1 y al mismo tiempo indujeron la sobreproducción de ROS. La inhibición del NFκB mejoró la sensibilidad a insulina, de manera que se estableció la relación entre la RI inducida por estrés oxidante y el factor de transcripción [Ogihara y cols., 2004].

En el hepatoma Fao, la incubación con un sistema generador de H₂O₂ induce la fosforilación

de la Ser307 del IRS-1 de manera directamente proporcional al tiempo de exposición con el agente oxidante, lo cual conlleva a su inactivación. Además, el oxidante activó a las cinasas IKKβ y JNK. La fosforilación inhibitoria en IRS-1 fue parcialmente revertida usando un inhibidor, o la combinación de inhibidores salicilato y SP600125. La combinación de inhibidores revirtió la inhibición de PKB/Akt inducida por ROS. Nuevamente, el estrés oxidante afecta la sensibilidad a insulina a través de la activación de IKKβ y de JNK.

La señalización de insulina al nivel de IRS-1 y Akt se inhibió, por la exposición *in vitro* a H₂O₂ en cultivos primarios de músculo esquelético o por la sobreproducción de ROS inducida por ácido palmítico en adipocitos 3T3-L1 [Dokken y cols., 2008; Hoehn y cols., 2009].

En consecuencia, se propone que las ROS, producidas principalmente en la mitocondria y generadas por las HFD [Koves y cols., 2008], pueden activar a las vías de señalización de IKK/NFκB y de JNK para alterar la señalización de insulina. Esto provoca la perpetuación de las alteraciones en el metabolismo de glucosa en músculo esquelético, hígado y tejido adiposo, generando RI en cada uno de estos tejidos.

3.5 La inducción de inflamación por FFAs mimetiza a la respuesta a LPS.

3.5.1 La respuesta a LPS

El lipopolisacárido (LPS) es un componente importante de la membrana externa de las bacterias gram negativas y consiste de 3 componentes básicos o regiones, las regiones I, II y III. La región I, que es la más externa, contiene unidades de carbohidratos repetidos que representan el “antígeno O”. La región II, o núcleo, consiste en un núcleo interno que muestra una variabilidad muy baja y uno externo, con una variabilidad estructural alta a moderada. Finalmente el lípido A, o región III, está embebido en la membrana externa, contiene cadenas de polisacárido, y FAs de cadena larga, particularmente ácido β-hidroxi-mirístico (ácido 3-hidroxi-tetradecanoico) (**Fig. 11**) [Moat y cols., 2004].

El LPS, también conocido como endotoxina, produce en mamíferos un fenómeno denominado endotoxemia. La endotoxemia se puede describir, a grandes rasgos, como el resultado de la entrada al torrente sanguíneo de bacterias gram negativas en hospederos mamíferos, lo que resulta en síndrome de shock séptico con fiebre elevada e hipotensión, dando lugar a disfunción múltiple de órganos y alta mortalidad. Estos síntomas son resultado de la respuesta inflamatoria aguda a la endotoxina [Andreasen y cols., 2008].

Para ejercer su actividad fisiológica, el LPS debe ser liberado de las bacterias para ser reconocido por el sistema inmune. El LPS está

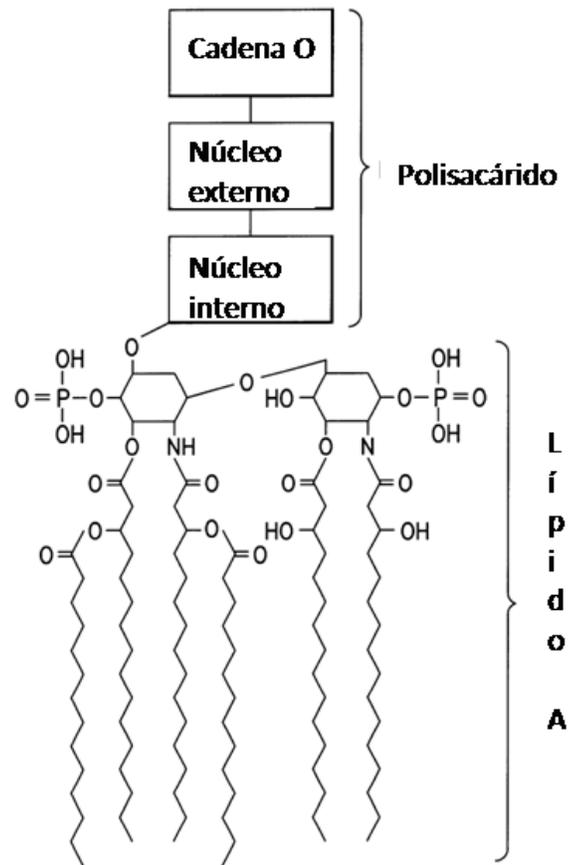


Fig. 11 Estructura del LPS.

<http://www.freepatentsonline.com/6759241.html>

disponible por desintegración o multiplicación de bacterias. En lugar de ser directamente tóxico a células animales, la endotoxina actúa estimulando a las células del hospedero, principalmente macrófagos y células endoteliales, para producir mediadores bioactivos que actúan en concierto y afectan otras células y órganos [Helander y cols., 2001].

La acción tóxica del LPS parece residir en el lípido A que es la porción del LPS reconocida por las células eucariotas, compuesto de FAs de 12-14 átomos de carbono [Banoub y cols., 2010]. La hidrólisis de sus cadenas acetiladas resulta en la disminución de su efecto en el hospedero [Munford y Hall, 1986], lo cual llevó a sugerir que los FAs saturados del lípido A son cruciales para generar una respuesta inmunológica contra el LPS.

Las principales citocinas producidas bajo la

estimulación con lípido A son: TNF y proteínas de la familia de las interleucinas, principalmente IL-1 e IL-6. Después de la exposición al LPS hay una elevada producción de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-8. También se produce IL-10 (citocina antiinflamatoria) a las 12 h de la estimulación celular. Estas moléculas son mediadores bioactivos que en pequeñas concentraciones regulan respuestas fisiológicas celulares y actúan en la defensa del hospedero contra infecciones bacterianas, pero en grandes cantidades produce efectos adversos [Bosshart y Heinzelmann, 2007].

Por otra parte, existe un modelo de inflamación denominado endotoxemia experimental, esta consiste de la administración i.v. de dosis controladas de LPS [Andreasen y cols., 2008], de tal manera que con este modelo se pueden estudiar los efectos del LPS en las células del hospedero sin inducir síndrome de shock séptico.

En los estudios de RI, se ha encontrado una amplia similitud entre la respuesta inflamatoria suscitada por la endotoxemia experimental y la respuesta generada por dietas altas en grasas, la obesidad y en general por las altas concentraciones de FFAs en plasma [Mehta y cols., 2010]. Por lo tanto, describiremos las similitudes entre estas respuestas al nivel de señalización y de producción de mediadores de la inflamación.

3.5.1.2 Señalización del LPS/TLR4

El LPS estimula a las células del hospedero a través de la interacción con diversas proteínas: la proteína de unión a LPS (LBP), CD14, MD-2 y TLR4. La endotoxina circulante en sangre se une a la LBP vía el lípido A, y este complejo es reconocido por CD14. La CD14 es una glicoproteína de 55 kDa que puede estar anclada a la membrana celular de células mieloides, así como de forma

soluble. En el plasma, el CD14 soluble ayuda a transmitir la señal del LPS a las células que carecen del CD14 anclado a membrana, como células endoteliales y epiteliales. De esta manera, el LPS es presentado a MD2 y a TLR4. MD2 es una glicoproteína soluble que actúa como una proteína adaptadora en la activación del TLR4 por LPS, y es esencial para la señalización, de hecho el LPS puede unirse directamente a MD2. Después, el MD2 se asocia con TLR4 (Fig 12) induciendo su agregación y la transducción de señales [Pålsson-McDermott y O'Neill, 2004].

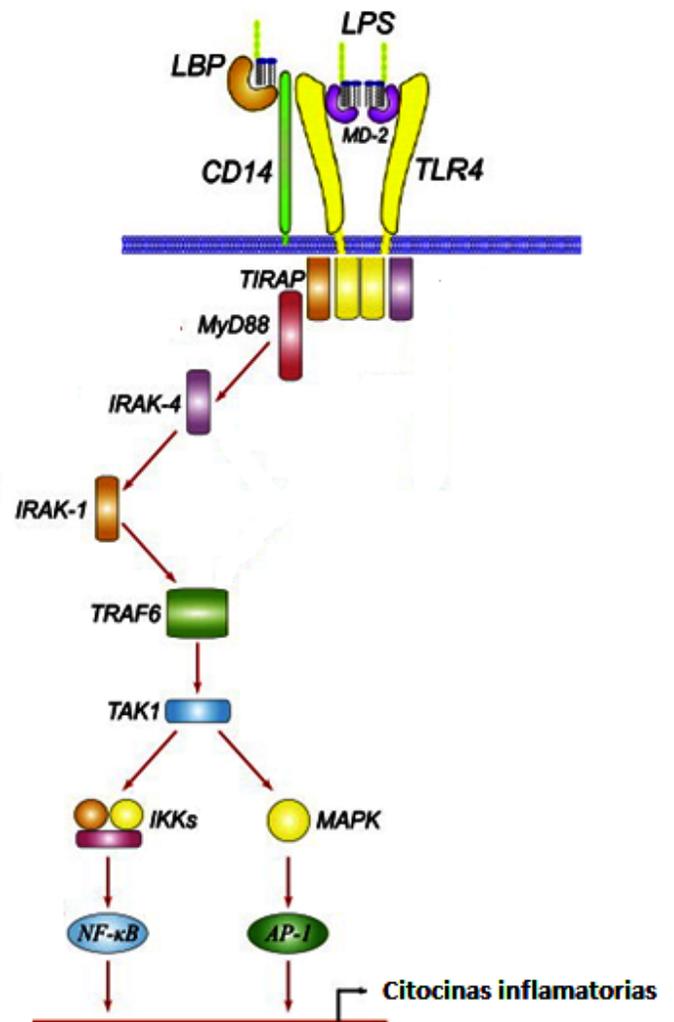


Fig. 12 Señalización de LPS/TLR4.

El reconocimiento de TLR es facilitado por el LBP y CD14, y es mediado por el complejo TLR4/MD-2. La señalización dependiente de MyD88 activa los genes de citocinas inflamatorias [Modificado de Lu y cols., 2008].

La señalización del TLR4 tiene dos vías: la dependiente de MyD88 (Gen primario de respuesta de diferenciación mieloide) y la MyD88- independiente. La primera induce la producción de citocinas inflamatorias, dado que éstas son un marcador de la RI, describiremos sólo a la vía MyD88- dependiente. Después del reconocimiento del LPS, el TLR4 se oligomeriza y recluta a sus moléculas adaptadoras a través de interacciones con los dominios receptor toll-interleucina-1 (TIR). Entre estas proteínas se encuentra la proteína adaptadora con dominios TIR (TIRAP) que es necesaria para la activación de la proteína MyD88 [Lu y cols., 2008]. A su vez, MyD88 recluta y activa a la cinasa 4 asociada al receptor de IL-1 (IRAK-4), quien a su vez es responsable del subsecuente reclutamiento, activación y degradación de IRAK-1. Entonces, IRAK-4 e IRAK-1 son fosforiladas secuencialmente y disociadas de MyD88, lo cual resulta en la activación del factor 6 asociado al receptor de TNF (TRAF6). Este factor contiene un dominio RING N-terminal, que se encuentra en varias E3 ubiquitin ligasas, y forma un complejo con Ubc13 y Uev1A. TRAF6, a su vez, activa a la TAK1 en una manera dependiente de ubiquitina. Después TAK1 activa a IKKs y a MAPKs (como JNK) que activan, respectivamente, al NFκB y a AP-1 para inducir la producción de citocinas inflamatorias (**Fig. 12**) [Kawai y Akira, 2006].

3.5.2 Los FAs mimetizan la señalización del LPS/TLR4

Lee y cols. (2003) demostraron en macrófagos RAW264.7 que el ácido láurico es capaz de activar al NFκB y de una manera dependiente del TLR4/MD2, además que, la presencia de CD14 potencia esta activación. Sus resultados muestran que un FA saturado puede activar al NFκB y que la vía de reconocimiento en la célula efectora es a través del CD14-MD-2-TLR4,

semejante a la vía de reconocimiento para LPS.

Lee y cols. (2003) también demostraron en estas células que la co-transfección de un plásmido de expresión Myd88^{-/-} (dominante negativa para eliminar la actividad intrínseca de MyD88) disminuyó la activación del NFκB, lo cual sugiere que la vía de activación estimulada por el ácido láurico es MyD88-dependiente. Es más, cuando los autores generaron mutantes doble negativas para TIRAP, el efecto en la activación del NFκB fue similar a las mutantes MyD88^{-/-}, siendo ésta proteína necesaria para la activación de MyD88, se confirmó la vía de activación corriente abajo del TLR4 al estimular con ácido láurico.

Lee y cols. (2003) demostraron que al inhibir a IRAK-1 y TRAF6 en células 293T la activación del NFκB disminuyó significativamente en respuesta al ácido láurico. Esto muestra que las moléculas de señalización corriente abajo a través de la estimulación con LPS, son las mismas que las participantes al estimular con FAs saturados.

Los mismos autores demostraron también que, la estimulación de macrófagos RAW264.7 con ácido láurico también activó a JNK. Cabe recordar que la estimulación con LPS activa las vías del NFκB y de JNK, por lo que el ácido láurico parece mimetizar la vía de reconocimiento del LPS así como a la vía MyD88-dependiente del TLR4 y esto podría ser por similitud estructural con el lípido A.

También, se ha encontrado que la estimulación de macrófagos con una mezcla de ácido oleico/palmítico 200 μM induce la expresión y secreción de IL-6 y TNFα. Shi y cols. (2006) demostraron que la sobreexpresión de estos mediadores es a través de la vía TLR4/MD2, MyD88. Estos hallazgos apoyan a la vía TLR4 MyD88-dependiente como la iniciadora de la respuesta inflamatoria inducida por FAs.

Shi y cols. también mostraron, en macrófagos aislados de ratones WT y TLR4^{-/-} estimulados con FFAs, que la activación de NFκB y de JNK, así como la expresión de citocinas inflamatorias, era dependiente de TLR4, pues su delección evitó estos fenómenos. Lo anterior sugiere que los FFAs activan a NFκB y a JNK a través de un mecanismo dependiente de TLR4 para inducir una respuesta inflamatoria en macrófagos.

3.5.3 Los FFAs inducen RI a través del TLR4

Shi y cols. (2006) demostraron que en ratones TLR4^{-/-} la infusión de lípido/heparina no indujo inhibición de PI3K o de IRS-1/p85 en músculo. Por lo tanto, la activación del TLR4 y su señalización podrían ser necesarias para mediar, al menos en parte, el mecanismo por el cual los FFAs causan RI en músculo.

Los mismos autores encontraron, que en los ratones TLR4^{-/-} los FFAs no alteraron la captación de glucosa mediada por insulina en músculo esquelético y tejido adiposo, en contraste con lo que sucedía con el grupo control. Esto sugiere que la activación del TLR4 por FFAs impide la captación de glucosa mediada por los GLUT4. Esto es así en las células sensibles a insulina, pues bloquea su señalización a nivel de la fosforilación en la Ser307 del IRS-1 e impide la traslocación a la membrana de los transportadores GLUT4 [Nguyen y cols., 2005].

Como se ha mencionado anteriormente, la alimentación de ratones con dietas altas en grasas induce aumento en marcadores de inflamación, Shi y cols. (2006) observaron en el tejido adiposo e hígado de los ratones TLR4^{-/-} ausencia en la expresión de estos marcadores (TNFα, IL-6 y MCP-1). Estos animales también mostraron mayor sensibilidad a insulina en comparación con los controles, por lo cual, el TLR4 podría contribuir al desarrollo de la RI inducida por HFD.

En resumen el receptor TLR4, *in vivo* e *in*

vitro, tiene un papel central en el desarrollo de la RI inducida por FFAs, pues su ausencia o atenuación lleva a la disminución de los efectos en expresión celular característicos de este estado, por ello el TLR4 puede ser considerado como uno de los componentes esenciales en el mecanismo de la RI inducida por FFAs.

3.5.4 Endotoxemia metabólica

En ratones alimentados con una HFD (por 4 semanas) Cani y cols. (2007) observaron que éstos tenían concentraciones elevadas de LPS en plasma, mismas que eran 10- 50 veces menores que las observadas durante la septicemia o en otras infecciones. Este fenómeno se definió como endotoxemia metabólica.

Los autores también encontraron que en estos animales se modificó la composición de su microbiota intestinal, demostrándose así, que una dieta alta en grasas incrementa la cantidad de LPS endógeno y además es capaz de modificar la microbiota intestinal común [Cani y cols., 2007].

Se ha visto que el LPS infundido (por 1 mes, mimetizando la endotoxemia metabólica vista en los ratones con HFD por 4 semanas) además de inducir la producción de citocinas inflamatorias, causa RI en hígado. Sin embargo, sus efectos son menores en comparación con los provocados por la HFD, pues sólo ésta última incrementa la cantidad de FFAs en plasma e induce RI sistémica [Cani y cols., 2007]

Por otro lado, en un estudio de endotoxemia experimental en humanos sanos, que recibieron dosis de 3 ng/kg de LPS por 60 h, los autores encontraron incremento temporal en los niveles en plasma de TNF, IL-6, de MCP-1 y de FFAs. También observaron disminución de 30% en la sensibilidad a insulina durante dos semanas, que coincidió con el máximo incremento de los marcadores inflamatorios. También hallaron

incremento de estos marcadores en tejido adiposo durante la endotoxemia [Mehta y cols., 2010]. Estos resultados indican que en humanos el incremento de marcadores inflamatorios clásicos de la endotoxemia se relaciona con niveles elevados de FFAs y el desarrollo de RI.

Por otra parte, la inflamación inducida por las dietas altas en grasas parece depender de manera importante de la microbiota intestinal. Ding y cols. (2010) observaron que en ratones carentes de microbiota intestinal y sometidos a una HFD, no hay producción de citocinas inflamatorias ni alteraciones en la sensibilidad a insulina. Por lo tanto, la microbiota intestinal podría jugar un papel clave en el desarrollo de RI inducida por dietas altas en grasas.

Hasta ahora, los hallazgos presentados indican una posible relación entre las dietas altas en grasas y la microbiota intestinal, se ha descrito que la primera modifica la composición de la segunda [Andrew y cols., 2011]. También se ha propuesto que receptores de la inmunidad participan en esta relación, de tal manera que las enfermedades metabólicas, como la RI, encuentran parte de su origen en estas interacciones [Hotamisligil, 2006].

DISCUSIÓN

Durante muchos años se ha tenido a la glucosa en exceso como el principal desencadenante de la resistencia a insulina. Sin embargo, en la última década se ha reconocido el papel central de la alteración en el metabolismo de lípidos como evento temprano de la RI [Savage y cols., 2007], esta alteración es consecuencia del exceso en la ingesta de algunos FAs y de la inactividad física, por lo que el organismo intenta contrarrestar la RI y prevenir la hiperglucemia elevando los niveles de insulina [Boden y Laakso, 2004].

La acumulación ectópica de lípidos es la que tiene mayor impacto en la sensibilidad a insulina y la que se ve aumentada por las dietas altas en grasas. La composición particular de FAs de la dieta es la que determina los efectos, o su severidad, sobre la sensibilidad a insulina. Los FAs de cadena larga, y particularmente los saturados, parecen disponer al organismo a la RI a través de la generación de productos citotóxicos, como las ROS y otros metabolitos, y por la inducción de mediadores inflamatorios.

Ciertos FAs n-3 poliinsaturados de cadena larga se han caracterizado por sus acciones antiinflamatorias [Calder, 2006], aunque no se descartan como factor en la alteración del estado redox. Esto es, que generan lípidos hidroperóxidos que conllevan a modificaciones oxidativas en blancos celulares, las cuales para ser revertidas consumen reductores y de allí que generen de manera indirecta el desbalance oxidativo [Rice-Evans y Burdon, 1993]. En algunos estudios, FAs poliinsaturados han mostrado ser inductores de RI.

Los FFAs disminuyen el transporte de glucosa y originan disminución en la oxidación de glucosa. El organismo, en estas condiciones, no ajusta el metabolismo en función de la fuente de energía; prefiere la oxidación de grasas en lugar

de glucosa durante el estado de saciedad. La β -oxidación exacerbada de lípidos será incompleta por tal demanda, principalmente en músculo. Esta condición se verá reflejada en el aumento en los niveles de acil-carnitinas en el plasma de pacientes con RI [Adams y cols., 2009].

Desde los inicios de la investigación sobre la RI, las alteraciones en el metabolismo de glucosa y lípidos, correlacionan con aumento tanto de FFAs en plasma como de marcadores de inflamación en suero y en tejidos. Esta compleja relación de metabolitos/agonistas estará presente en la obesidad, no obstante es posible que la RI sea suficientemente sostenida con los mediadores inflamatorios. El TNF- α , es suficiente para originar RI en modelos *in vitro*.

Es así, que la inflamación ha emergido como una conexión entre los FFAs y la RI en tejidos individuales y a nivel sistémico. En el organismo en conjunto, la relación se vuelve increíblemente compleja pues la inflamación local y sistémica es influenciada por otros factores como: la microbiota intestinal habitual, otras enfermedades inflamatorias o condiciones genéticas que predisponen a un estado inflamatorio [Sanchez y cols., 2008].

Los FFAs pueden generar mediadores de la inflamación por su similitud estructural con el LPS, que es un inductor clásico de la respuesta inmune innata. Esta respuesta consiste de la modulación de mediadores inflamatorios y antiinflamatorios así como del reclutamiento de macrófagos al sitio afectado.

Los FFAs presentes de manera crónica generan una regulación distinta en las células mieloides incrementando los niveles de citocinas inflamatorias y disminuyendo los niveles de citocinas antiinflamatorias. Las que residen en tejido adiposo, presentan un estado inflamatorio más acentuado. Esto se debe a que carecen de

la protección de la IL-10 secretada por el tejido adiposo [Nguyen y cols., 2007].

Los mecanismos inflamatorios regulados por la interacción entre la microbiota habitual y las dietas altas en grasas, originan la endotoxemia metabólica. La composición de la dieta influye en la diversidad de la microbiota y a su vez la microbiota intestinal regula la expresión de genes que modulan la oxidación de FAs y más importante aún, redundante en la cantidad de LPS secretada, como lo demuestran las diferencias observadas en la composición de la microbiota intestinal entre sujetos obesos y no obesos y la presencia de LPS en los primeros. [Andrew y cols., 2011].

Cabe mencionar que si bien los sujetos con RI presentan LPS en la sangre, sus niveles son pequeños, de ahí que la respuesta inflamatoria sea de menor proporción a la generada por la infección o el daño al tejido [Medzhitov, 2008].

Por tanto, la identificación de comunidades, o miembros específicos, en la microbiota intestinal que sean determinantes en la RI, así como de sus interacciones con nutrientes como los FAs, representaría una herramienta útil y novedosa en la prevención y tratamiento de la RI.

Una explicación del por qué los FFAs resultan ser inductores de inflamación es la evolutiva. Esto es, en organismos primitivos las funciones de metabolismo, inmunidad y almacenamiento de grasas residen en un mismo órgano; mientras que en organismos complejos estas funciones se diversificaron. Es posible que en esta divergencia las funciones conservaran las vías de señalización, por lo que las funciones metabólicas e inflamatorias compartirán los mediadores, permitiendo a los nutrientes regular la respuesta inflamatoria a través de los receptores, como los TLRs, que son receptores asociados al sistema inmunológico [Hotamisligil, 2006].

Por otra parte, el estrés oxidante, principalmente por ROS, es otro inductor de RI, y éste se puede generar con las dietas altas en grasas. Es de notar que las dietas pobres en antioxidantes podrían coadyuvar en la fijación de un estado oxidante e inflamatorio en varios órganos (**Fig. 13**). En pacientes con RI es común la disminución en antioxidantes como ácido ascórbico, vitamina E, la glutatión peroxidasa, entre otros. Hay que señalar que la terapia con antioxidantes como la vitamina E en estados de RI, ha fallado en pruebas clínicas [Laight y cols., 2000].

Se ha demostrado que pequeñas cantidades de ROS (nmoles-mmole), inducidas por insulina en tejidos sensibles a ésta hormona, actúan como segundos mensajeros, coadyuvando la acción de insulina. Estos niveles de ROS corresponden a los necesarios en un circuito redox localizado,

a diferencia de las concentraciones que llevarían a estrés oxidante (>mmoles). La actividad de las ROS podría afectar a blancos celulares que normalmente regularían de forma negativa la acción de la insulina [Goldstein y cols., 2005].

Desafortunadamente, una dieta alta en grasas genera rangos elevados de ROS y aunado a pobreza en antioxidantes, inducirá RI por alteraciones inflamatorias y metabólicas, desempeñando un papel directo y sinérgico en esta patología.

La alteración de vías metabólicas e inflamatorias para generar RI, inducida por dietas altas en grasas, reside en la capacidad de los FFAs para activar a IKK/NFκB y a JNK en tejido adiposo, hígado y células mieloides a través de tres mecanismos. Estos mecanismos son: 1) la activación de PKCs mediada por los productos del metabolismo exacerbado de FFAs,

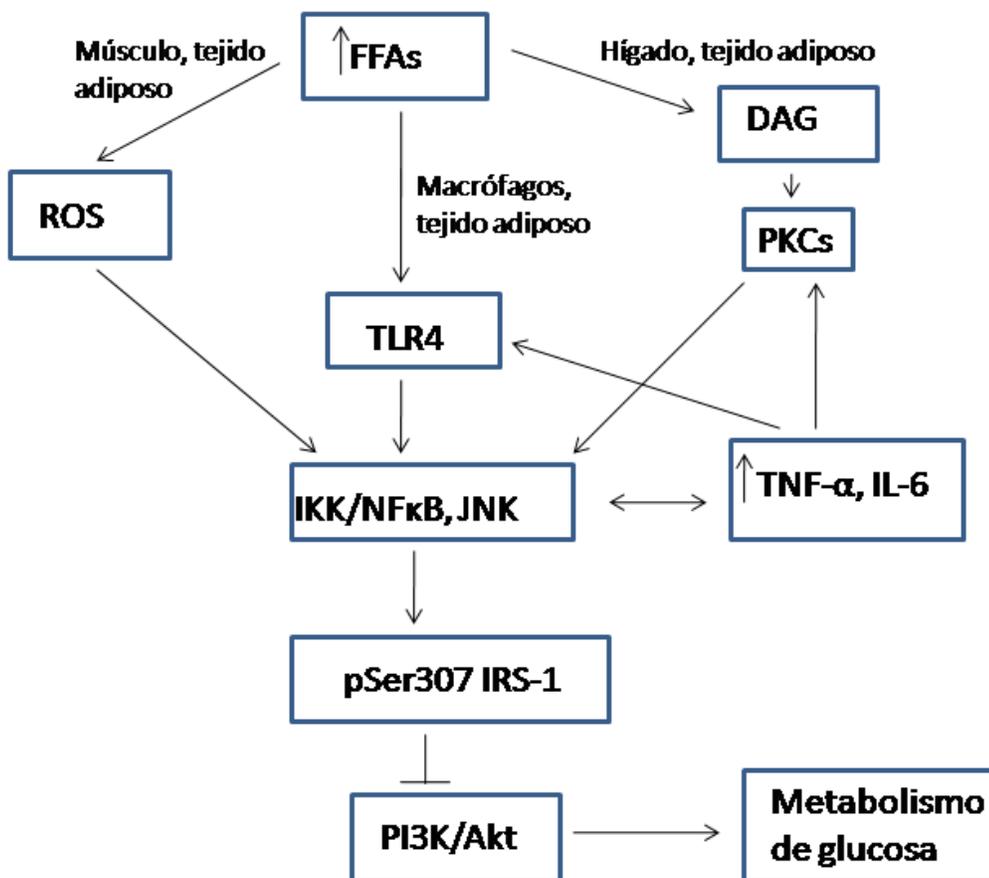


Fig. 13 FFAs y RI.

Los FFAs ejercen sus efectos de manera dependiente del tejido para alterar la señalización de insulina.

2) la activación directa a través de ROS, o 3) la señalización del TLR4 mediada directamente por algunos FFAs. Esto lleva a la producción de citocinas inflamatorias, principalmente TNF- α e IL-6, que retroalimentarían la activación de las cinasas y el factor de transcripción, perpetuando el proceso (**Fig. 13**).

La acción conjunta de JNK y IKK/NF κ B ocasiona inhibición de la señalización de insulina, cuyo resultado final es la alteración del metabolismo de glucosa (**Fig. 13**). La respuesta del organismo es generar un ajuste metabólico con un nuevo estado estacionario en un intento por recuperar el estado homeostático. No obstante tanto la persistencia del desajuste metabólico como la concurrencia con el proceso inflamatorio desencadenan la RI.

Además de los factores mencionados, también hay que reconocer la influencia de los polimorfismos de genes involucrados en el metabolismo de la glucosa, en el transporte y metabolismo de lípidos, en los receptores de la inmunidad innata, en la expresión de algunos microRNAs [Trajkovski y cols., 2011] y factores epigenéticos generados por el estilo de vida y la dieta [Petronis, 2006].

CONCLUSIONES

La RI es una enfermedad metabólica donde en la mayoría de los casos, el evento inicial es el desequilibrio en el metabolismo de ácidos grasos de cadena larga, que por sus características son capaces de modular vías metabólicas e inflamatorias. Estos lípidos, interactúan de una manera dependiente del tejido con receptores y enzimas reguladoras del metabolismo, con la consecuente modificación del uso de glucosa y de los ácidos grasos mismos, y la generación de un estado inflamatorio sistémico “leve”.

La cronicidad de señales que induce la

persistencia de los FFAs en la dieta/sangre origina nuevas condiciones fisiológicas en la célula, que implican alteración del metabolismo energético, inflexibilidad metabólica, alteración del estado redox y un estado inflamatorio. Estos desarreglos generan una trama de mediadores y vías de señalización alteradas y con una diversificada red de comunicación cruzada que compromete a la homeostasis

Además, la microbiota intestinal habitual, la predisposición genética y el sedentarismo coadyuvan al sostenimiento de dichas alteraciones.

Por último, los blancos moleculares y celulares dan cuenta de las diversas oportunidades de tratamiento para pacientes con RI, que involucran además de fármacos, regímenes específicos de la composición de la dieta y del estilo de vida, donde los objetivos son varios: modulación de la microbiota intestinal habitual, del metabolismo energético, del estado redox y de la inflamación. La reversión de la RI, por otra parte, sí representa un reto dada la complejidad de los sistemas involucrados y las características genotípicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adams, SH, Hoppel, CL, Lok, y cols. 2009. Plasma acylcarnitine profiles suggest incomplete long-chain fatty acid beta-oxidation and altered tricarboxylic acid cycle activity in type 2 diabetic African-American women. *J Nutr.* 139:1073-81.
2. Aguirre, V., Uchida, T., Yenush, L., y cols. 2000. The c-Jun NH₂-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of ser307. *J. Biol. Chem.* 275: 9047-9054.
3. Ali, A., Hoeflich, K.P., Woodgett, J.R. 2001. Glycogen synthase kinase-3: Properties, functions, and regulation. *Chem Rev* 101: 2527-2540.
4. Altman, A., Isakov, N., Baier, G. 2000. Protein

kinase C θ : A new essential superstar on the T-cell stage. *Imm Tod* 21:567-573.

5. Anderson, E.J., Lustig, M.E., Boyle, y cols. 2009. Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *J.Clin Inv.* 119: 573-581.

6. Andreasen AS, Krabbe KS, Krogh-Madsen R, y cols. 2008. Human Endotoxemia as a model of sistemic inflammation. *Curr Med Chem.* 15:1697-1705.

7. Andrew L. K, Philip P. A, Nicholas W. G, y cols. 2011. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature.* 474: 327–336.

8. Anónimo. (2011). Health topics; Obesity. En: WHO. 2011. <http://www.who.int/topics/obesity/en/>

9. Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, y cols. 2005. IKK- β links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nature Med.* 11:191-198.

10. Banoub JH, Aneed A E, Cohen AM y Joly N. 2010. Structural investigation of bacterial lipopolysaccharides by mass spectrometry and tandem mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev.* 29:606-50.

11. Benítez-Guzmán, A., Eslava, C., González-Espinosa, C., Torres-Márquez, M.E. 2011. Pet induces IL1, TNF α , MIF and IL1Ra through the IKK α β /NF κ B Pathway. *Open Imm J.* 4:16-21.

12. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. En: *Biochemistry.* New York: W H Freeman. 5ta Ed. (2002). Web, 2011. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22414/>

13. Bloch-Damti, A., Potashnik, R., Gual, P., y cols. 2006. Differential effects of IRS1 phosphorylated on Ser307 or Ser632 in the induction of insulin resistance by oxidative stress. *Diabetologia* 49:2463-2473.

14. Boden, G., Laakso, M. 2004. Lipids and glucose in type 2 diabetes: What is the cause and effect? *Diabetes Care.* 27:2253-2259.

15. Boden G, Chen X, Ruiz J, y cols. 1994. Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J Clin Invest.* 93:2438–2446.

16. Boden G, She P, Mozzoli M, y cols. 2005. Free fatty acids produce insulin resistance and activate the proinflammatory nuclear factor- κ B pathway in rat liver. *Diabetes.* 54: 3458-3465.

17. Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J. 2000. Consequences

of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab.* 26:163-76.

18. Bosshart H., Heinzelmann M. 2007. Targeting bacterial endotoxin. *Ann New York Acad Sci.* 1096: 1–17.

19. Bradley R L., Fisher F M., Maratos-Flier E. 2008. Dietary fatty acids differentially regulate production of TNF- α and IL-10 by murine 3T3-L1 adipocytes. *Obesity.* 16:938–944.

20. Cai D, Yuan M, Frantz D F, y cols. 2005. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- β and NF- κ B. *Nature Med.* 11:183–190.

21. Calder PC. 2006. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr.* 83 (Suppl):1505S-1519S.

22. Cani P D, Amar J, Iglesias M A, y cols. 2007. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes.* 56:1761-1772.

23. Davis R J. 2000. Signal transduction by the JNK group of MAP Kinases. *Cell.* 103:239-252.

24. De Vogel-van den Bosch J, van den Berg SA, y cols. 2011. High-fat diets rich in medium-versus long-chain fatty acids induce distinct patterns of tissue specific insulin resistance. *J Nutr Biochem.* 22:366-371.

25. Ding, S., Chi, M.M., Scull, y cols. 2010. High-fat diet: bacteria interactions promote intestinal inflammation which precedes and correlates with obesity and insulin resistance in mouse. *PLoS One.* 5:e12191.

26. Dokken B., S Vitoon S., Kim JS, y cols. 2008. Oxidative stress-induced insulin resistance in rat skeletal muscle: role of glycogen synthase kinase-3. *AJP – Endo.* 294:E615-E621.

27. Dresner, A., Laurent, D., Marcucci, M., y cols. 1999. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J. Clin. Inv.* 103:253-259.

28. Fraser-Reid B., Tatsuta K. y cols. 2001. *Glycoscience: chemistry and chemical biology I-III.* Springer. P. 1370

29. Frayn K N. 2002. Insulin resistance, impaired postprandial lipid metabolism and abdominal obesity. *Med Princ Pract.* 11 (Suppl. 2):31-40.

30. Gallagher, E.J., LeRoith, D., Karnieli, E. 2008. The Metabolic syndrome- from insulin resistance to obesity and diabetes. *Endocrinol*

Metab Clin N Am.; 37:559- 579.

31. Gao, Z., Hwang, D., Bataille, F. y cols. 2002. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor κ B kinase complex. *J. Biol. Chem.* 277: 48115-48121

32. Gao Z, Zhang, Zuberi A, Hwang DI, Quon M J., Lefevre M y Ye J. 2004. Inhibition of insulin sensitivity by free fatty acids requires activation of multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol.* 18:2024-2034.

33. Gao, D., Nong, S., Huang, X., y col. 2010. The effects of palmitate on hepatic insulin resistance are mediated by NADPH oxidase 3-derived reactive oxygen species through JNK and p38 MAPK pathways. *J. Biol. Chem.* 285:29965-29973.

34. Gilmore T D. 2006. Introduction to NF- κ B: players, pathways, perspectives. *Oncogene.* 25:6680–6684.

35. Goldstein, B.J., Kalyankar, M., Wu, X. 2005. Redox paradox: Insulin action is facilitated by insulin-stimulated reactive oxygen species with multiple potential signaling targets. *Diabetes.* 54:311-321.

36. Greenway, S. C. 2005. Human Energy Metabolism in Health and Disease, in *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation* (ed K. B. Storey), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.

37. Groop, L.C., Bonadonna, R.C., DelPrato, S., y cols. 1989. Glucose and free fatty acid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Evidence for multiple sites of insulin resistance. *J Clin Invest.* 84:205-213

38. Halperin y Rolleston. 1993. *Clinical detective stories.* Portland Press. London. P.9.

39. Helander I M, Mamat U y Rietschel ETH. 2001. Lipopolysaccharides. In: *Encyclopedia of life science.* John Wiley & Sons.

40. Hirabara, S.M., Curi, R., Maechler, P. 2010. Saturated fatty acid-induced insulin resistance is associated with mitochondrial dysfunction in skeletal muscle cells. *J Cell Physiol.* 222:187-194.

41. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, y cols. 2002. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature.* 420:333-336.

42. Hoehn, K.L., Salmon, A.B., Hohnen-Behrens, C., y cols. 2009. Insulin resistance is a cellular antioxidant defense mechanism. *PNAS.*

106:17787-17792.

43. Hotamisligil GS. 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 444:860-867.

44. Hue, L., Taegtmeyer, H. 2009. The Randle cycle revisited: A new head for an old hat. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 297:E578-E591

45. Jones, D.P. 2008. Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol.* 295: C849-C868.

46. Kanda H, Tateya S, Tamori Y y cols. 2006. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest.* 116:1494-505

47. Kawai T. y Akira S. 2006. TLR signaling. *Cell Death Differ.* 13:816-825.

48. Kim, J.K. 2009. Hyperinsulinemic-euglycemic clamp to assess insulin sensitivity in vivo. *Mets in mol boil.* 560:221-238

49. King M W, (a) (1996-2011) Fatty acid and triglyceride metabolism: Regulation of fatty acid metabolism. En: *The medical biochemistry page.* 2011. <http://themedicalbiochemistrypage.org/lipid-synthesis.html>. 2011.

50. King M W, (b). Op cit. Lipoproteins: Intestinal uptake of lipids. <http://themedicalbiochemistrypage.org/lipoproteins.html>

51. King M W, (c). Op cit. Insulin action: Insulin regulation of metabolism. <http://themedicalbiochemistrypage.org/insulin.html>

52. King M W, (d). Op cit. Glycolysis: regulating blood glucose: The individual reactions of glycolysis <http://themedicalbiochemistrypage.org/glycolysis.html#reactions>

53. King M W, (e). Op. cit. Oxidative phosphorylation: Generation of Reactive Oxygen Species, ROS. <http://themedicalbiochemistrypage.org/oxidative-phosphorylation.html#ros>

54. Koutsari C., Jensen M.D. 2006. Free fatty acid metabolism in human obesity. *J Lipid Res* 47:1643-1650.

55. Koves TR, Ussher JR, Noland RC, y cols. 2008. Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. *Cell Metab.* 7:45-56.

56. Laight, D.W., Carrier, M.J., Ånggård, E.E. 2000. Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction. *Cardiovasc Res.* 47:457-464.

57. Lane D M. 2009. Energy balance, obesity

and type-2 diabetes. In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd: Chichester.

58. Latchman D S. 1997. Transcription factors: An 8verview. *Int J Biochem Cell Biol.* 29:1305-1312.

59. Laugerette F., Vors C., Peretti N., Michalski M C. 2011. Complex links between dietary lipid, endogenous endotoxins and metabolic inflammation. *Biochimie.* 93:39-45.

60. Le Roith, D., Quon, M. J.y Zick, Y. 2003. Molecular and Cellular Aspects of Insulin Resistance: Implications for Diabetes, in *Signal Transduction and Human Disease* (eds T. Finkel and J. S. Gutkind), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.

61. Lee D-E, Kehlenbrink S, Lee H, y cols. 2009. Getting the message across: mechanisms of physiological cross talk by adipose tissue. *AJP –Endo.* 296:E1210-E1229.

62. Lee JY, Ye J, Gao Z, y cols. 2003. Reciprocal modulation of TLR4-signaling pathways involving MyD88 and PI3K/AKT by saturated and polyunsaturated fatty acids. *J. Biol. Chem.* 278:37041-37051.

63. Lu YC, Yeh WC, Ohashi PS. 2008. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine.* 42:145-51.

64. Medzhitov R. 2008. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature.* 454:428-435.

65. Mehta NN, McGillicuddy FC, Anderson PD, y cols. 2010. Experimental endotoxemia induces adipose inflammation and insulin resistance in humans. *Diabetes.* 59:172-81.

66. Moat A G., Foster J W. Spector M P. 2002. *Microbial Physiology.* Wiley- Liss. New York .4th Ed. Pp. 304-306.

67. Morgan, M.J., Liu, Z.-G. 2011. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Res.* 21:103-115

68. Munford RS, Hall CL. 1986. Detoxification of bacterial lipopolysaccharides (endotoxins) by a human neutrophil enzyme. *Science.* 234:203-5.

69. Muniyappa, R., Lee, S., Chen, H., Quon, M.J. 2008. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 294:E15-E26.

70. Najjar S. 2001. Insulin action: molecular

basis of diabetes. In: Encyclopedia of life sciences. John Wiley & Sons.

71. Nakatani Y, Kaneto H, Kawamori D, y cols. 2004. Modulation of the JNK pathway in liver affects insulin resistance status. *J. Biol. Chem.* 279:45803-45809.

72. Nguyen MT, Satoh H, Favelyukis S, y cols. 2005. JNK and tumor necrosis factor-alpha mediate free fatty acid-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem.* 280:35361-71.

73. Nguyen, M.T.A., Favelyukis, S., Nguyen, A.K., y cols. 2007. A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *J Biol Chem.* 282:35279-35292.

74. Nishikori M. 2005. Clasical and alternative NF κ B activaci3n pathways and their role in limphoid malignancies. *J. Clin. Exp Hematopathol.* 45:15-24.

75. Ogihara, T., Asano, T., Katagiri, H., y cols. 2004. Oxidative stress induces insulin resistance by activating the nuclear factor- κ B pathway and disrupting normal subcellular distribution of phosphatidylinositol 3-kinase. *Diabetologia.* 47:794-805.

76. Oliart R., Angulo O., Torres-Marquez M.E. 1998. Insulina: Su gen y su mecanismo de acci3n molecular. *BEB* 17:79-85.

77. Oliveira P. P., Zecchin G. H., Gasparetti L. A., y cols. 2005. Western diet modulates insulin signaling, c-Jun N-terminal kinase activity, and insulin receptor substrate-1^{ser307} phosphorylation in a tissue-specific fashion. *Endocrinol.* 146:1576-1587.

78. Pålsson-McDermott, E.M. y O'Neill, L.A.J. 2004. Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, Toll-like receptor-4. *Immunology.* 113:153-162.

79. Perkins ND. 2007. Integrating cell-signalling pathways with NF- κ B and IKK function. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 8:49-62.

80. Petronis, A. 2006. Epigenetics and twins: three variations on the theme. *Trends Genet.* 22:347-350.

81. Plum, L., Belgardt, B.F., Brüning, J.C. 2006. Central insulin action in energy and glucose homeostasis. *J.Clin Inv.* 116:1761-1766.

82. Postic C, Dentin R, Girard J. 2004. Role of

the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diab Metab.* ; 30:398-408.

83. Randle PJ. 1998. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes Metab Rev.* 14:263-83

84. Rao G. 2001. Insulin resistance syndrome. *Am Fam Physician.* 63:1159-1163.

85. Rice-Evans, C., Burdon, R. 1993 Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog Lipid Res.* 32:71-110.

86. Roden M, Price T B, Perseghin G, y cols. 1996. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest.* 97:2859–2865.

87. Rösen, P., Nawroth, P.P., King, y cols. 2001. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: A summary of a congress series sponsored by UNESCO-MCBN, the American diabetes association and the German diabetes society. *Diabetes Metab Res Rev.* 17:189-212.

88. Rosse, C., Linch, M., Kermorgant, S. y cols. 2010. PKC and the control of localized signal dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11:103-112

89. Sanchez-M. F, Dominguez-L. A, Yamamoto-F. JK. 2008. Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 14:4280-8.

90. Savage, D.B., Petersen, K.F., Shulman, G.I. 2007. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. *Physiol Rev.* 87:507-520

91. Schaeffler A, Gross P, Buettner R, y cols. 2009. Fatty acid-induced induction of TLR-4/ NFκB-pathway in adipocytes links nutritional signaling with innate immunity. *Immunology.* 126:233-245.

92. Schafer, F.Q., Buettner, G.R. 2001. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med.* 30:1191-1212.

93. Shen H-M y Liu Z-g. 2006. JNK signaling pathway is a key modulator in cell death mediated by reactive oxygen and nitrogen species. *Free Radic Biol Med.* 40:928-939.

94. Shi H, Kokoeva M V., Inouye K, y cols. 2006. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J.Clin Inv.* 116:3015-3025.

95. Sies H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.* 82:291-5.

96. Solinas G, Naugler W, Galimi F, y cols. 2006. Saturated fatty acids inhibit induction of insulin gene transcription by JNK-mediated phosphorylation of insulin-receptor substrates. *PNAS (USA)* 103:16454-16459.

97. Tam CS, Clément K, Baur LA, y cols. 2010. Obesity and low-grade inflammation: a pediatric perspective. *Obes Rev.* 11:118–126.

98. Trajkovski, M., Hausser, J., Soutschek, J., y cols. 2011. MicroRNAs 103 and 107 regulate insulin sensitivity. *Nature.* 474:649-653.

99. Tvrzicka E, Kremmyda LS, Stankova B, Zak A. 2011. Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease-a review. Part 1: classification, dietary sources and biological functions. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 155:117-30.

100. Weston CR, Davis RJ. 2007. The JNK signal transduction pathway. *Curr Opin Cell Biol.* 19:142-149.

101. Wilding J. P. H. 2007. The importance of free fatty acids in the development of Type 2 diabetes. *Diabet Med.* 24:934–945.

102. Yu C, Chen Y, Cline GW, y cols. 2002. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem.* 277:50230-6

103. Zhang L, Keung W, Samokhvalov V, y cols. 2010. Role of fatty acid uptake and fatty acid β-oxidation in mediating insulin resistance in heart and skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta.* 1801:1-22.