

# DIABETIS AVUI



## EL TEIXIT ADIPÓS I EL SEU PAPER EN LA PATOGENÈSI DE L'OBESITAT I LA DIABETIS MELLITUS TIPUS 2.

Joan J. Vendrell Ortega

Cap Servei Endocrinologia i Nutrició

Hospital Universitari Joan XXIII de Tarragona

Universitat Rovira i Virgili i Institut d'Investigacions Sanitàries Pere Virgili, Tarragona

CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), ISCIII



Servei Endocrinologia i Nutrició

Hospital Universitari Joan XXIII

c/ Dr. Mallafrè Guasch, 4

43005 Tarragona



977 29 58 23



[jvo@comt.es](mailto:jvo@comt.es)

[jvo@comt.org](mailto:jvo@comt.org)

## 1. Introducció.

Des de fa uns quants anys, es prou conegut que la diabetis mellitus tipus 2 (DM2) esta adquirint unes proporcions epidèmiques arreu del món. Aquest espectacular increment, va sempre de la mà de l'augment gairebé en els mateixos termes de la obesitat, una de les comorbiditats més lligada a aquesta patologia, si bé no l'única. Aquesta estreta relació ha fet que moltes de les investigacions dutes a terme, ho hagin fet amb la finalitat de cercar els mecanismes biològics que poden contribuir a presentar ambdues patologies. Hores d'ara, la DM2 i el *clúster* de malalties que porta associades, representen un greu problema de salut pública i en són responsables d'una mort prematura i una clara reducció de l'esperança de vida. Això fa que per primer cop es contempli a la generació actual, com a una generació amb una menor esperança de vida que la precedent (1,2). Així doncs, esbrinar les bases biològiques i restaurar les alteracions metabòliques que comporten aquestes malalties ha esdevingut una prioritat entre la comunitat científica del nostre entorn.

Un dels elements claus per a entendre l'estret lligam entre l'obesitat i la DM2, és el teixit adipós. Un teixit que en els últims anys ha esdevingut un veritable òrgan funcional, amb una àmplia gama d'activitat autocrina, paracrina i endocrina que l'ha posat al capdavant de la responsabilitat de moltes de les alteracions metabòliques que es troben tant a l'obesitat com a la DM2. Així, el teixit adipós blanc, sembla que pot tenir un paper important en el manteniment de la homeòstasi energètica del organisme, mitjançant l'acumulació de triglicèrids quan tenim un excés d'aportació energètica, alliberant àcids grassos lliures com a combustible durant els períodes de carència energètica i secretant hormones (adipoquines) que són importants per regular el metabolisme lipídic i de la glucosa.

La concepció estructural del teixit adipós també ha canviat en els últims anys. De fet, hores d'ara, es fa difícil imaginar al teixit adipós només com una massa inert de adipòcits plens de lípids, esperant ser utilitzats davant d'una necessitat energètica concreta. Avui sabem que tant la localització anatòmica com la variabilitat en els components que en formen part de la seva estructura, són essencials per entendre algunes de les disfuncions metabòliques que s'observen en els pacients amb obesitat i diabetis.

Per tal de comprendre millor aquestes peculiaritats anem a veure amb una mica més de detall, alguns aspectes d'aquest teixit, redescobert en els últims anys.

## 2. Teixit adipós blanc.

Sabem que el cos humà disposa de dos tipus diferents de teixit adipós. El teixit blanc (TAB) i el teixit adipós marró (TAM), si bé recentment s'ha descrit una tercera tipologia intermèdia, coneguda com a teixit adipós beix. El TAB esta constituït essencialment per adipòcits amb un alt contingut de lípids al seu citoplasma en forma d'una única gota lipídica envoltat de fibroblasts, cèl·lules endotelials, elements cel·lulars dels sistema immune i una xarxa de capil·lars i terminals nervioses (3). És un teixit dotat d'una capacitat particular que tenen pocs altres teixits, com és la seva capacitat de expansió massiva, almenys en algunes localitzacions anatòmiques concretes.

A nivell embriològic ja podem detectar TAB a partir del segon trimestre. Un fet que cal remarcar es que el TAB esdevé a partir de cèl·lules mare del mesoderm, negatives per al marcador del factor miogénic *Myf5* (4). Aquestes cèl·lules mare d'origen mesenquimal, son fàcilment aïllables i identificables en el teixit adipós adult i es troben habitualment envoltant la xarxa dels capil·lars entre els adipòcits. La major part del teixit adipós es completa durant els primers anys de vida i es pensa que la expansió del TAB durant la edat adulta, es fa a expenses de la hipertrofia dels adipòcits existents. No obstant, això no es ben be cert del tot, doncs sabem que la dinàmica dels adipòcits i de les cèl·lules mare que en formen part del teixit, pot variar durant la vida adulta. Treballs previs, han estat capaços de demostrar que els adipòcits tenen una taxa de reposició al voltant de un 10% anual (5) i també sabem que en l'obesitat la dinàmica dels precursors dels adipòcits es força diferent a la que es pot observar en situacions d'aprimament, influint clarament en la cel·lularitat i funcionalitat d'aquest teixit.

### 2.1. Funcions del teixit adipós blanc.

Tal i com ja hem comentat més amunt, el teixit adipós blanc es un lloc adient per guardar l'excés de energia en forma de triglicèrids en situacions de excés d'oferta de nutrients. Aquest lípids poden ser fàcilment reconvertits en àcids grassos lliures per ésser utilitzats com a combustible en cas de necessitat. No obstant, també sabem que aquest teixit, es capaç de produir altres factors, amb capacitat d'actuar com a hormones. La primera hormona que es va identificar com a pròpia dels adipòcits (si no be exclusiva), va ser la leptina (6). Aquesta hormona la podem trobar fàcilment al

plasma circulant i té la capacitat de induir sacietat i augmentar la despesa energètica en condicions normals (7). Inicialment se la va proposar com a una proteïna anti-obesitat però el temps ha anat definint millor el seu paper, moltes vegades obstaculitzat per la existència d'una resistència a la mateixa, que sembla no ser exclusiu en el control de la gana. Així cada cop hi ha més evidències que mostren possibles efectes sistèmics d'aquesta hormona incloent la regulació neuroendocrina, la immunològica i un paper en el desenvolupament (7,8).

Tot seguit després de identificar aquesta hormona, han anat sorgint noves proteïnes sintetitzades pels adipòcits, entre les que cal destacar-ne la adiponectina (9). Es tracta d'una proteïna secretada, sintetitzada principalment pels adipòcits. S'ha proposat com un biomarcador útil en la sensibilitat a la insulina, el risc cardio-vascular i la inflamació. Els seus nivells es troben disminuïts en els pacients obesos i es comporta com una proteïna antiinflamatòria en moltes ocasions (10). No obstant el teixit adipós pot ser també font de múltiples proteïnes pro-inflamatòries, com el factor de Necrosis Tumoral alfa (FNTá), la Interleucina 6 (IL-6) o la proteïna atraient de monòcits (MCP-1), entre les més estudiades i que tractarem més endavant. Ara bé, tant la expressió gènica com la capacitat secretora, poden variar força dependent de la localització anatòmica a on es trobi el teixit adipós.

### **2.1.a. Importància de la localització del dipòsit de greix en la secreció i expressió d'adipo-citocines.**

El teixit adipós subcutani i el visceral, tenen clares diferències, tant en la expressió gènica, la capacitat de induir hipertròfia o hiperplàsia dels adipòcits i la producció de diferents adipo-citocines. La incapacitat del teixit subcutani per emmagatzemar l'excés de carbó-hidrats en forma de lípids es tradueix en un major risc de desenvolupar DM2 en els pacients obesos. Per contra, el teixit adipós visceral està positivament associat a més resistència a la insulina i mostra un major infiltrat inflamatori amb major producció de citocines pro-inflamatòries que el teixit subcutani en les pacients obesos.

Habitualment el greix visceral acostuma a expressar nivells més elevats d'IL-6, MCP-1, factor inhibidor de l'activació del plasminogen-1 (PAI-1) i Interleucina 8 (IL-8), en canvi la producció de leptina o de la proteïna induïble per interferó gamma (IP-10) acostuma a ser més important en el teixit adipós subcutani (TAS). Respecte a les diferències en la producció de FNTá i adiponectina no sembla que sigui tan determinant la localització, almenys en situació de no obesitat.

L'Omentina, també coneguda com a receptor de lactoferrina, és una adipo-citocina

més específica del teixit visceral (TAV). La seva expressió es localitza sobretot en les cèl·lules no adipocitàries i es troba disminuïda en situacions d'obesitat i de resistència a la insulina. S'ha proposat que aquesta hormona pugui actuar com a resposta a una elevada resistència a la insulina en el context d'un estat proinflamatori anòmal, per tal de millorar la captació de glucosa per aquest teixit visceral (11). Respecte a la visfatina, no s'han descrit diferències entre tots dos dipòsits de greix (12).

### **2.1.b. Reclutament de pre-adipòcits i adipogènesi segons el dipòsit de greix.**

Es tracta de un procés complicat que requeriria d'un capítol a part per si mateix. De fet, l'acumulació de teixit adipós depèn d'una part de la capacitat de formar nous adipòcits (reclutament de preadipòcits/cèl·lules progenitores) i la seva diferenciació terminal a adipòcit madur i de la hipertròfia dels ja existents. El teixit adipós subcutani té una major capacitat per a diferenciar els adipòcits i augmentar la seva expansió, per tal d'acumular lípids. Aquesta capacitat de magatzematge serveix d'alguna manera per a evitar que augmenti el greix visceral i es redueixi també el dipòsit de greix a d'altres teixits com el múscul i el fetge.

La participació de membres de la via Wnt i BMP semblen essencials en el pas de cèl·lules mare mesenquimals cap a preadipòcit. Els mecanismes reguladors d'aquestes vies són complexos i moltes vegades poc coneguts en cèl·lules humanes (13).

Els estudis referits a la part final de la diferenciació de l'adipòcit, són més abundants i es coneixen amb més detall. Un dels elements claus d'aquest procés és el receptor gamma de proliferació del peroxisoma activat (PPAR $\gamma$ ), membre d'una família de receptors nuclears i que es troba implicat com a element clau en la adipogènesi. Hi ha diferents isoformes, si bé sembla que la més rellevant durant aquest procés és la isoforma 2. Per descomptat, hi ha d'altres factors que intervenen en el procés de diferenciació i maduració, com són els coneguts elements de unió de resposta al AMPc (CREB), els factors que potencien la unió de proteïnes CCAAT (C/EBPs) o factors Kruppel-like (KLF), però tots ells ho fan a través d'una inducció més o menys directe de l'expressió de PPAR $\gamma$  (14,15). Aquest factor de transcripció esdevé també fonamental per la inducció de la expressió d'un elevat nombre de gens que intervenen en la lipogènesi i el metabolisme de la glucosa. S'han identificat llocs de unió del PPAR $\gamma$  en regions reguladores del transportador de la glucosa GLUT4, de la lipoprotein lipasa (LPL) i de la mateixa adiponectina entre d'altres.

D'altra banda, el procés d'adipogènesi es pot veure negativament regulat per

diverses interaccions proteïna-proteïna dels propis membres de la via Wnt, hedgehog i de la família KLF (16).

A part dels factors proteics comentats, recentment s'han identificat diversos microARN (petits fragments no codificants de ARN; miARNs) capaços de regular l'adipogènesi. Si ens centrem en els estudis en cèl·lules humanes, sabem que determinats miARNs (miR27b, miR143, miR519d, miR138 i miR130) intervenen en algun moment de la adipogènesi amb efectes inhibidors o estimuladors a través de la regulació de diversos factors de transcripció com els mencionats més amunt.

Al extrem oposat de la adipogènesi, trobem la mort adipocitària en diverses formes com l'apoptosi. Sembla que els adipòcits que provenen del TAV son mes susceptibles als estímuls apoptòtics que els que es troben en localitzacions subcutània (17).

La raó per la que els adipòcits mostren diferències marcades segons la localització anatòmica, especialment el origen subcutani o visceral, no es coneix del cert, però les hipòtesis més plausibles apunten a una regulació epigenètica durant les fases inicials del desenvolupament, que marcarien el futur d'aquest teixit (18).

### **3. Teixit adipós marró.**

El teixit adipós marró (TAM) esta format per adipòcits que són molt rics en mitocondris i que tenen una disposició multilocular de la gota lipídica, a diferència dels adipòcits blancs. El teixit adipós marró és un lloc a on es produeix una intensa termogènesi, que en molts mamífers és essencial per a la seva supervivència en ambients freds. Aquests adipòcits contenen una abundant quantitat de proteïna desacoplant-1 (UCP-1), la qual un cop és activada provoca tota una sèrie de curtcircuits que condueixen a la síntesi d'ATP estimulant l'activitat de la cadena respiratòria mitocondrial. La producció de calor es genera a partir de diversos substrats i es distribueix a la resta del organisme a través del torrent circulatori (19). Sabem que aquest tipus de teixit es troba durant el desenvolupament fetal i apareix al voltant de les cinc setmanes de gestació essent màxima la seva distribució al moment del part. Durant la infància es va perdent de forma progressiva i es reemplaçat per teixit adipós blanc. La rellevància del TAM en adults no ha estat considerada fins recentment, en que es va constatar una relació inversa entre la massa (petita, no obstant) de teixit marró i el Índex de massa corporal (IMC). Resulta també especialment interessant que aquest teixit és capaç d'augmentar la seva activitat en determinades situacions, com es la exposició al fred o en patologies associades a alts

nivells de catecolamines (20,21). Tot plegat, ha fet que es reprengui l'interès per utilitzar aquest tipus de teixit com a possible diana terapèutica en la obesitat i malalties relacionades.

De forma característica, a partir d'adipòcits blancs, s'ha trobat que en resposta a estímuls molt determinats, aquestes cèl·lules poden esdevenir amb característiques que les fan semblants al TAM. Apareixen *clústers* d'adipòcits expressant UCP-1 amb una certa capacitat termogènica. Aquests adipòcits s'han anomenat "adipòcits beix" per diferenciar-los dels marrons. Tenen una morfologia semblant als marrons (múltiples gotes lipídiques, alt contingut mitocondrial i expressió d'una bateria de gens característics del TAM com són per exemple *UCP-1*, *Cidea* i *Pgc 1alfa*). Malgrat aquestes similituds, hi ha una sèrie de diferències que podem veure resumides a la taula 1 i que fan que siguin considerats hoies d'ara com a elements cel·lulars diferents:

**Taula 1. Diferències entre adipòcits marrons i beix en humans.**

	Expressió UCP1	Localització	Marcadors enriquits	Factors de transcripció claus	Activadors
Adipòcit marró	+++++	Inter-escapular Cervical Axil·lar Perirrenal Endocàrdica?	<i>Zic1</i> <i>Lhx8</i> <i>Eva1</i> <i>Pdk4</i> <i>Epsti1</i> miR-206; miR-133b	Cebpβ Prdm16 Pgc-1á Ppar-á Ebf2 TR	Fred Tiazolidinedionas Pèptids natriuretics Hormona tiroïdal Fgf21; Bmp7; Bmp8b; Orexina
Adipòcit beix	++	Difusa entre el TAB (més en subcutani que en visceral)	<i>Cd137</i> <i>Tbx1</i> <i>Tmem26</i> <i>Cited1</i> <i>Shox2</i>	Cebpβ Prdm16 Pgc-1á	Fred Tiazolidinedionas Pèptids natriurètics Fgf21; Irisina Hormona tiroïdal?

Adaptat de Harms M i cols. (22)

El punt clau d'aquestes diferències, rau en saber si tots dos tipus d'adipòcits tenen funcions diferents. Aquesta qüestió encara no està gens aclarida, si bé els treballs més recents semblen indicar que podrien tenir una funció similar i per tant, la diferenciació entre marró i beix, seria més una tema de localització que no pas de funció. Un altre aspecte que es força interessant i que en aquest moment es motiu de intens estudi, és el possible efecte que els adipòcits beix, podrien tenir sobre el metabolisme/funcionalisme del TAB. Tot plegat fa que l'interès per la seva utilització en patologia com la obesitat i la resistència a la insulina estiguin en el punt de mira de la recerca biomèdica actual.

### **3.1. Precursors del teixit marró i beix.**

Els adipòcits marrons, provenen de precursors del mesoderm que expressen de forma transitòria els gens Myf5 i Pax7, ambdós presents també en cèl·lules que esdevindran teixit muscular. Així, tots dos tipus cel·lulars (adipòcit marró i múscul esquelètic) comparteixen una signatura genètica força similar en molts punts.

L'origen dels adipòcits beix es molt més confús. Per exemple, a partir de cèl·lules mesenquimals aïllades de TAB, es pot induir la expressió de UCP-1 in vitro, el que fa pensar que algunes de les cèl·lules mare que troben al TAB poden tenir un potencial diferenciador cap a característiques de teixit beix. De fet hi ha autors que diuen haver identificat dos subtipus de pre-adipòcits, que en condicions basals, no tindrien les característiques termogèniques típiques dels adipòcits beix, però que al ser estimulats amb agonistes beta-adrenèrgics, desenvoluparien aquesta capacitat (23). Aquest estímul cal que sigui mantingut en el temps perquè aquestes cèl·lules conservin les característiques d'adipòcit beix, el que suposaria que en condicions fisiològiques no trobéssim un alt grau de conversió entre els adipòcits. De fet no hi ha dades fiables de la quantitat de precursors que podria haver d'adipòcits beix entre el TAB. Com tampoc està clar si el patró d'expressió de gens del teixit marró aïllat en humans, es similar als adipòcits beix diferenciats a partir de TAB d'humans. Així doncs, queda encara força camí per recórrer i entendre bé el paper, la funció i el potencial d'aquests tipus cel·lular en l'ésser humà.

### **3.2. Paper en la regulació del metabolisme energètic i l'adipogènesi.**

El paper del TAM en el control de la despesa energètica, no està massa aclarit hores d'ara. Els models animals manipulats genèticament per a que no expressin teixit



adipós marró, no sempre desenvolupen obesitat, com seria d'esperar. De fet, només quan se'ls sotmet a unes determinades condicions ambientals, acaben desenvolupant un major increment de pes a expenses del TAB. Fins i tot, els models *knockout* pel factor UCP-1 són incapaços d'augmentar de pes respecte als seus controls, fet que estaria indicat un augment de la despesa energètica a través d'altres vies diferents al TAM (24) Ara bé, els models experimentals que fan augmentar la quantitat de TAM, mostren uns efectes beneficiosos sobre diversos paràmetres metabòlics, millorant la obesitat, la resistència a la insulina i la tolerància a la glucosa (25).

El reclutament, creixement i desenvolupament d'adipòcits marrons/beix, és complex i està influït per múltiples sistemes de control. A grans trets, intervenen mecanismes regulats pel sistema nerviós simpàtic, factors de creixement vascular, i diverses quinases entre d'altres elements. La descripció detallada d'aquest punt, escapa als objectius d'aquest article, no obstant es pot trobar una revisió recent de Fernandez-Veledo i cols sobre aquests aspectes tan del TAB com del TAM (26).

#### **4. Disfunció metabòlica del teixit adipós en l'obesitat i la diabetis mellitus.**

En el moment actual es gairebé acceptat per tothom que el teixit adipós és l'òrgan que contribueix en una proporció major a la generació i manteniment d'un estat pro-inflamatori que resulta perjudicial per a un adequat funcionalisme d'aquest teixit. Aquest estat inflamatori a diferència del que es pot observar en situació d'inflamació aguda, resulta en una reducció de la despesa energètica, afavorint i perpetuant l'obesitat i la resistència a la insulina que sovint l'acompanya.

Aquesta disfuncionalitat del teixit adipós té un origen múltiple. La infiltració del teixit per cèl·lules immuno-competents, la alteració del balanç secretor d'adipocitoquines, la presència d'una major hipòxia al voltant dels adipòcits i la lipotoxicitat induïda per l'acumul ectòpic de greix en elements cel·lulars diferents dels adipòcits, hi contribueixen de forma determinant en tot aquest procés.

##### **4.1 Hipòxia del teixit adipós.**

L'inici del procés inflamatori en l'obesitat és poc conegut. Possiblement el creixement anòmal d'aquest teixit durant el procés que acabarà generant obesitat es trobi darrera de la generació d'un context adient per a acabar induint inflamació local i sistèmica. L'expansió ràpida del teixit adipós en l'obesitat porta lligat en moltes ocasions un defecte en la creació d'una adequada xarxa de capil·lars que puguin

subministrar una suficient oxigenació d'aquestes cèl·lules produint una relativa hipòxia tissular. L'estructura microvascular del teixit, també resulta essencial per a mantenir una adequada funcionalitat de les cèl·lules endotelials evitant l'expressió de molècules d'adhesió i factors que alterin la permeabilitat dels capil·lars facilitant l'arribada de cèl·lules immunes que acabi afectant a la dinàmica dels progenitors de cèl·lules adipocitàries. Els factors que influeixen en el manteniment de un adequat flux sanguini als adipòcits, són múltiples (la insulina, el sistema simpàtic, el sistema renina-angiotensina, hormones gastrointestinals, pèptids natriuretics, etc). De fet, sabem que la resistència a la insulina per si mateixa és capaç de alterar el flux normal cap a els adipòcits i que els pacients amb obesitat i DM2 presenten un flux reduït durant el període post-prandial, el que podria empitjorar la pròpia resistència a la insulina que presenten. (27). El creixement normal de teixit adipós "sa" comporta l'aparició de nous adipòcits diferenciats (habitualment de mida petita), una adequada xarxa de capil·lars i una inducció mínima dels components de la matriu extracel·lular. En l'obesitat humana, s'ha demostrat que aquest procés es troba alterat produint se un augment de adipòcits ja existents amb un major infiltrat de macròfags i presència de fibrosi i acumulació de col·lagen VI. Aquesta situació pot ajudar a limitar l'adequada expansió del teixit adipós donant lloc a l'acumulació anòmala de lípids fora dels adipòcits. No obstant, el consum d'oxigen per part del teixit adipós es coneix que es força reduït, inclús en situacions de normopes, i si bé l'alteració de la microcirculació podria induir una relativa major hipòxia al voltant dels adipòcits, no està clar que la hipòxia del teixit adipós sigui un fet diferencial determinant entre els subjectes primis i obesos (28). Hores d'ara calen més estudis en humans per aclarir el paper real que la hipòxia representa en tot el procés.

#### **4.2. Inflamació del teixit adipós.**

La hipòtesi de la inflamació com a eix central de la resistència a la insulina en la obesitat i la diabetis tipus 2, ha estat una constant des de fa ja fa uns quants anys (29). El teixit adipós és capaç de sintetitzar i secretar una gran quantitat de proteïnes amb diferent capacitat inflamatòria o antiinflamatòria. Cal diferenciar, no obstant, aquelles proteïnes produïdes essencialment pels adipòcits de les que són secretades pels components de la part estromo-vascular (SV) del teixit adipós, especialment les cèl·lules immunitàries. Així, se sap que el teixit adipós de persones obeses o amb diabetis, sintetitza més quantitat de interleucines inflamatòries essent el component SV el principal generador d'aquestes. Aquesta resposta inflamatòria pot auto-

perpetuar-se induint un augment de proteïnes inflamatòries a nivell local i sistèmic, com són el FNT- $\alpha$ , la IL-6, la IL-1 $\beta$  i d'altres que resulten típiques en el context de la resistència a la insulina que observem en aquests pacients.

Dit això, el que resulta d'una importància crucial, es entendre i conèixer que és el que origina inicialment el procés inflamatori en el teixit adipós induint resistència a la insulina, per així poder dissenyar estratègies que vagin directament a l'arrel del problema. Malgrat la cascada de la senyalització de la insulina ha estat profundament estudiat, els mecanismes de com apareix la resistència a la insulina són encara poc coneguts. Des d'alteracions en la expressió del receptor de la insulina, defectes en la unió al receptor, fosforilacions i alteracions de quinases per sota del senyal de la insulina, totes elles poden acabar induint resistència a la insulina. L'excés d'insulina suprimeix l'expressió del receptor 2 del substrat de la insulina (IRS2) i el supressor de la senyal de citocines (SOC1/3) induït a través de estímuls inflamatoris com el FNT- $\alpha$  o la IL-6 augmenten la degradació dels IRS1/2. La fosforilació en diversos residus de Serina de l'IRS a través de diferents quinases és un altre dels coneguts mecanismes d'inducció de resistència a la insulina a través d'estímuls inflamatoris. L'increment de FNT- $\alpha$  en la obesitat, fa que s'activi la quinasa N-terminal Cjun (JNK) i el inhibidor de la quinasa  $\beta$  del factor nuclear  $\kappa$ B (IKK  $\beta$ ) per acabar fosforilant la Serina en posició 307 de l'IRS. Evidentment aquest mecanisme no és l'únic que té lloc en el procés d'inducció de resistència a la insulina a través de molècules inflamatòries, però potser si és un dels més típics i coneguts (30). D'altra banda, la fosforilació de l'IRS, la activació de JNK i de l'IKK  $\beta$ , poden per si mateixos induir més inflamació en determinats teixits diana, perpetrant el cercle viciós del procés inflamatori.

#### **4.2.1. Alteració de la composició de les cèl·lules immunes del teixit adipós en l'obesitat.**

Tal i com ja hem comentat abans, el TAB està format a més dels adipòcits per un conjunt de cèl·lules que donen lloc al que anomenem espai estromo-vascular. Aquí s'inclouen fibroblasts, cèl·lules endotelials i també cèl·lules del sistema immune. El infiltrat per macròfags responsables de la resposta immune innata, és el centre del procés inflamatori que trobem en el teixit adipós dels pacients obesos i que afavorirà la aparició de resistència a la insulina. Aquest tipus cel·lular el podem diferenciar en dos poblacions amb característiques diferents. Els coneguts com a M1 que es caracteritzen per tenir un comportament clarament més pro-inflamatori (produeixen Interferó gamma, sintasa del òxid nítric i citocines inflamatòries) i els anomenats M2,

amb un perfil més anti-inflamatori i que sintetitzen citocines com la IL-4, la IL-13 entre d'altres. Aquests macròfags es poden diferenciar a través d'immuno-marcadors de superfície i sabem que els pacients amb obesitat presenten una major proporció del tipus M1 (si bé alguns autors posen en dubte aquesta distribució funcional simplificada). Aquests, secreten una major quantitat de citocines com el FNT- $\alpha$ , la IL-6 i la IL-1 $\beta$ . A l'hora el FNT- $\alpha$  pot produir un increment de la expressió de citocines inflamatòries en els propis adipòcits (31). Altres tipus cel·lulars també participen d'aquest procés, com són els eosinòfils, les cèl·lules dendrítiques i els mastòcits.

La resposta immune adaptativa també resulta important en el procés inflamatori. Les cèl·lules T CD4<sup>+</sup> es troben incrementades en el teixit adipós dels pacients obesos i són capaces d'estimular la producció d'interferó- $\gamma$ . Els estudis en models animals, són abundants en el que es refereix a aquest mecanisme de resposta adaptativa, demostrant una disminució de cèl·lules T-reguladores amb capacitat antiinflamatòria (Th2 CD4<sup>+</sup> i Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>). No obstant manquen estudis en humans que confirmin aquest punt.

#### 4.2.2. Adipo-citocines pro-inflamatòries.

**Leptina:** La leptina, proteïna força ben coneguda, producte del gen *ob*, es troba augmentada a nivell circulatori en subjectes amb obesitat, degut a la presència d'una resistència a la mateixa. Aquesta hiperleptinèmia és capaç d'induir augment de l'estrès de reticle endoplàsmic i disminució de l'autofàgia. La leptina té una important acció pro-inflamatòria a través de l'activació dels macròfags produint més quantitat de IL-6, FNT- $\alpha$  i estimulant la producció de CCL2 i factor endotelial de creixement vascular inhibint tanmateix la síntesi de citocines antiinflamatòries del tipus Th2. A l'hora els propis estímuls inflamatoris són capaços de estimular la expressió de leptina (32).

**IL-6:** El paper de la IL-6 en l'obesitat és controvertit. Sembla clar que els nivells de IL-6 disminueixen en paral·lel a la pèrdua de pes i la millora de la sensibilitat a la insulina en pacients sotmesos a pèrdua de pes intensa. Tanmateix el teixit adipós, tan subcutani com visceral, semblen una font important de secreció d'aquesta citocina en l'obesitat. En canvi els models animals *knockout* per IL-6, no mostren una protecció per la obesitat i la administració, tant en models de ratolí com essers humans, intravenosa d'aquesta citocina es capaç de millorar la secreció de insulina a través de la estimulació de la producció de GLP-1 (33). Els pocs estudis clínics que existeixen contribueixen a afegir més incertesa sobre el paper de la IL-6 en la obesitat i la

diabetis. Així, en un assaig clínic amb tocilizumab (anticòs anti-IL-6) en pacients amb artritis reumatoïda, el tractament va millorar discretament el control metabòlic dels pacients que a més presentaven diabetis mellitus. Dades en el mateix sentit es varen poder observar en un altre mini-estudi de 11 subjectes tractats amb el mateix anticòs, amb millora de diversos paràmetres lligats a la sensibilitat a la insulina (Taula 2). Ara bé, cap estudi s'ha fet específicament en població amb diabetis mellitus sense patologia immune concomitant i, per tant, totes les dades de que es disposa són molt preliminars i insuficients per parlar d'un efecte clarament beneficiós de l'anul·lació de l'activitat de la IL-6 per a lluitar contra la hiperglucèmia de la diabetis (34,35).

**Factor de Necrosis Tumoral alfa:** Es podria dir que és la primera citocina clarament involucrada en la generació de resistència a la insulina, tant a nivell *in vitro* com *in vivo*. A nivell molecular, el FNT- $\alpha$  afavoreix la fosforilació dels residus del IRS-1 en Ser-307 i activa la cascada inflamatòria a través de les vies canònica i no canònica del factor de transcripció NF- $\kappa$ B. El FNT- $\alpha$  incrementa la captació basal de glucosa per part dels adipòcits, però indueix resistència a la insulina alterant la cascada de senyalització a nivell de IRS1/AKT a través de mecanismes dependents de la activació de diverses quinases com JNK 1/2. Així mateix sembla que una part dels efectes deleteris sobre la sensibilitat a la insulina els fa a través de la interacció amb la activitat de fosfatases com la PP2A, essencials per a l'activació de la quinases com JNK. Per a una revisió més extensa del paper del FNT-  $\alpha$  a nivell molecular sobre la resistència a la insulina, es pot consultar la revisió de Nieto-Vazquez i cols. (36).

Malgrat els nivells circulants d'aquesta citocina es troben positivament relacionats amb la resistència a la insulina en humans, no queda clar el paper de la neutralització del FNT- $\alpha$  sobre el metabolisme hidrocarbonat. Els primers treballs de principis dels anys 90, inhibint la activitat FNT a curt termini, no varen demostrar efectes beneficiosos sobre la sensibilitat a la insulina en pacients amb diabetis tipus 2. Ara bé, alguns estudis posteriors amb tractaments a més llarg termini de pacients portadors de malalties autoimmunes com l'artritis reumatoïda, tractats amb molècules anti-TNF, si que varen mostrar un discret benefici sobre la sensibilitat a la insulina d'aquests pacients (37). No obstant i sense pretendre fer una anàlisi detallada de tots els estudis que hi ha al respecte, crec que val la pena comentar dos treballs recents que han utilitzat aquesta teràpia anti-FNT. Un es del grup de Ferraz-Amaro i cols, a on tracten 16 pacients afectes de artritis reumatoïda i mesuren paràmetres relacionats amb la resistència a la insulina. En aquest treball la teràpia anti-FNT no va demostrar cap benefici sobre aquests paràmetres. Un altre treball fet en pacients amb obesitat

resistents a la insulina tractats amb infliximab durant 6 setmanes, tampoc va demostrar cap benefici sobre la resistència a la insulina, posant en dubte el paper real d'aquesta citocina en la lluita contra la insulín-resistència i per tant contra la diabetis mellitus, almenys per ara (38,39).

**Proteína-4 lligant de Retinol (RBP-4):** Es una proteïna amb un paper pro-inflamatori que es troba expressada en macròfags, hepatòcits i adipòcits. Els seus nivells s'han descrit elevats en l'obesitat i associats a processos inflamatoris. La seva activitat estimula la producció de diversos factors endotelials que influeixen en el procés inflamatori.

**Resistina, Quimiocinas CCL i CCR, proteïna similar a l'angiopoietina 2 i Chemerina:** Aquestes proteïnes les tractarem breument i de forma conjunta. Els seus nivells s'han relacionat en diversos treballs amb un major IMC i vinculades a diverses processos inflamatoris. El seu mecanisme d'acció es variat i el seu paper en la patogènesi de la resistència a la insulina en el context de la obesitat i la diabetis es discutible en molts casos. Cal saber de la seva existència però hores d'ara el seu paper com a dianes de futur terapèutic per a lluitar contra la resistència a la insulina dista força d'estar entre els primers llocs de la llista.

**Interleucina 1:** La família de citocines de la IL-1 [IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18 i antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1Ra)] estan sent motiu d'un intens estudi durant els últims anys, pel seu determinant paper que semblen tenir en la patogènesi de la resistència a la insulina. Sabem que la IL-1 $\beta$  té un potent efecte pro-inflamatori a través de la seva unió al receptor de la IL-1. A través de diversos mecanismes activadors de diferents receptors de proteïna-cinases incloses la JNK, ERK, p38 i el inhibidor de la cinasa kappaB (IKK) inicien la activació de la via NF- $\kappa$ B entre d'altres, per estimular l'expressió de diversos gens inflamatoris. A més la IL-1 $\beta$  és capaç d'interferir en la senyalització de la insulina mitjançant la reducció de la fosforilació de l'IRS-1 induint resistència a la insulina.

Els estudis en obesitat humana, han posat de manifest nivells circulants elevats de IL-1Ra, que minven amb la pèrdua de pes i mostren una relació inversa amb la sensibilitat a la insulina. A nivell del teixit adipós de pacients amb obesitat, aquesta proteïna es troba induïda i també disminueix la seva expressió amb la pèrdua de pes el que suggereix una resistència a aquest factor principalment anti-inflamatori (40). Una de les evidències més consistents sobre el paper de la IL-1 $\beta$  en la resistència a la

insulina induïda per la inflamació, esdevé del treball de Donath i cols, a on demostren que el bloqueig de la IL-1 $\beta$  mitjançant la administració de IL-1Ra, produeix una clara millora de la hiperglucèmia i la resistència a través d'una disminució de la inflamació sistèmica (41). En el moment actual es troba en marxa un estudi a on el bloqueig de la IL-1 amb un anticòs monoclonal s'utilitza per comparar la eficàcia en la prevenció d'aparició d'esdeveniments coronaris, accident cerebro-vascular, mort d'origen cardiovascular i aparició de DM2 en una població d'alt risc cardiovascular (42). Indubtablement les dades d'aquest estudi ens seran de molta utilitat i ens ajudarà força a definir el paper d'aquesta citocina en la patogènesi de la resistència a la insulina i el procés arterioscleròtic.

Un aspecte rellevant que pot estar al darrera de la importància del bloqueig de la activitat de la IL-1 en la millora del procés inflamatori sistèmic i per tant dels derivats d'aquest com es la resistència a la insulina i la aparició de DM2, és el paper que juga la plataforma de proteïnes que conformen el "*inflamósoma*". De fet la activació de la IL-1 $\beta$  depèn de la proteòlisi a través de una caspasa-1 la qual a l'hora es activada per l'inflamosoma. L'inflamosoma forma part important del sistema immune innat i respon a senyals que sensibilitzen diferents receptors tipus NOD (*NOD-like receptors*). Els treballs més recent posen de manifest la importància d'aquest sistema de proteïnes en l'obesitat i la diabetis. Per una revisió més detallada de les troballes més recents podeu consultar l'article de Stienstra i cols. (43).

#### 4.2.3. Adipo-citocines anti-inflamatòries.

**Adiponectina:** Es tracta d'una molècula essencialment produïda pels adipòcits. La podem trobar a altes concentracions al plasma circulant i ho pot fer en formes monomèriques o formant multimers, el que pot fer variar la seva activitat i funcionalitat en determinats òrgans. Els nivells circulants es troben disminuïts en la obesitat i la resistència a la insulina. Diversos estímuls inflamatoris i la pròpia hipòxia poden reduir la seva expressió en el teixit adipós. La Adiponectina es comporta com una molècula antiinflamatòria, activant la proteïna-cinasa AMP depenent a través dels seus receptors R1 i R2. Això comporta un increment en l'oxidació de greixos, un augment en la captació de glucosa al múscul i una supressió de la gluconeogènesi hepàtica. Tanmateix la adiponectina és capaç de bloquejar la resposta inflamatòria induïda pel lipo-polisacàrid en cèl·lules immuno-competents mitjançant la inhibició de la via canònica inflamatòria del NF- $\kappa$ B, estimulando a l'hora la síntesi de proteïnes antiinflamatories com la IL-10 (44,45). La administració de adiponectina pot canviar la

polaritat dels macròfags, diferenciant-los cap a un fenotip M2, més antiinflamatori. Sembla que la capacitat antiinflamatòria d'aquesta molècula es troba força vinculada a la facilitació de l'acumulació de energia (sabem que és una hormona anti-lipolítica) i la inhibició de la despesa energètica.

**Interleucina 10 (IL-10):** Suprimeix la transducció del senyal de les proteïnes pro-inflamatòries. Els seus nivells circulants es troben disminuïts en l'obesitat i és essencialment produïda pels macròfags del tipus M2 (46). No es disposen de dades sobre el paper que podria jugar la recuperació dels nivells de IL-10 en l'obesitat humana sobre el procés inflamatori que l'acompanya.

**Vaspina, Omentina i Apelina:** Totes elles proteïnes sintetitzades en el teixit adipós, amb un paper inhibidor sobre diverses citocines pro-inflamatòries com el FNT- $\alpha$ , almenys a nivell *in vitro* i en models animals. No tenim dades fiables del seu paper en l'obesitat humana. Tan sols destacar un treball recent en que l'administració d'apelina en un model de ratolí amb diabetis tipus 1 amb nefropatia diabètica, aconseguia reduir la inflamació sense afectar els nivells de glicèmia (48).

**Factor de Necrosi Tumoral dèbilment inductor d'apoptosi (TWEAK):** TWEAK es una citocina que pertany a la superfamília del FNT i que desencadena múltiples respostes cel·lulars que van des de la proliferació fins la mort cel·lular. Es troba circulant en plasma en una forma soluble, després de ser tallada enzimàticament per una proteasa. Interacciona amb un receptor específic (Fn14) que es troba en múltiples tipus cel·lulars, inclosos els adipòcits. La seva senyalització intracel·lular és conduïda a través d'una via similar a la utilitzada pel FNT (via proteïnes TRAF). Els nivells circulants baixos de la forma soluble, s'han relacionat amb una major predisposició a processos arterioscleròtics i més recentment a una major predisposició a presentar DM2. Malgrat la seva condició de proteïna pro-inflamatòria, sembla que a nivell del teixit adipós pot presentar un efecte protector frenant en part l'activitat intracel·lular inflamatòria desencadenada pel FNT- $\alpha$ , a través de l'activació de la via PPA2 (48,49).

#### **Dianes de vies de senyalització:**

**MPK1:** La mitogen-activada proteïna-cinasa 1 és una cinasa intracel·lular amb capacitat antiinflamatòria que actua inhibint diverses MAP cinases. En models de ratolins, la seva inhibició comporta un augment considerable dels estímuls pro-inflamatoris.



*NFKB i IKK $\beta$* : La via IKK $\alpha$ /NF- $\kappa$ B controla una gran part de la senyalització intracel·lular de la resposta a citocines pro-inflamatòries. Ara bé, no sempre això significa que la seva activació hagi de comportar indefectiblement un augment de la resistència a la insulina i un increment de l'obesitat. De fet els models de ratolins que híper-expressen NK- $\kappa$ B, malgrat tenen un increment notable del procés inflamatori, no presenten més resistència a la insulina i la seva despesa energètica es troba incrementada. Quelcom similar succeeix en els ratolins que híper-expressen IKK $\beta$ , a on l'increment del ambient inflamatori es tradueix en un augment de la despesa energètica i una resistència a l'obesitat (50). Probablement són models que no són extrapolables a la inflamació que té lloc en l'obesitat humana i representen graus extrems d'inflamació a on predomina la despesa energètica. Proposar que un estat pro-inflamatori podria millorar la sensibilitat a la insulina i a l'hora augmentar la despesa energètica és una hipòtesi plausible donat els models animals comentats, si bé poc realista en l'ésser humà per lluitar contra l'obesitat o la resistència a la insulina crònicament.

*JNK*: L'activació de la serina cinasa JNK-1 s'ha relacionat com hem vist abans, amb estats d'estres de reticle i inflamació, induint una major resistència a la insulina a través de una fosforilació de l'IRS-1. Sembla que aquesta cinasa té una funció específica diferent segons el teixit en que es trobi. La seva anul·lació en teixit hepàtic empitjora la resistència a la insulina, en canvi la seva híper-expressió en teixit adipós provoca una major insulín-resistència.

És evident que cap d'aquestes citocines per si mateixa és suficient per a explicar un procés complex en el que s'activen i inactiven gairebé totes elles, interaccionant entre si. Ens trobem davant d'un equilibri entre proteïnes pro-inflamatòries i antiinflamatòries que queda malmès en el context de l'obesitat i la diabetis mellitus. Probablement la utilització de teràpies que vagin dirigides només a una d'aquestes molècules, tampoc sigui necessàriament útil per vèncer la resistència a la insulina que es genera tot plegat. Com a exemple trobem diversos assajos clínics a on han utilitzat teràpies contra determinades citocines i a on els resultats es poden considerar com a mínim controvertits, alguns dels quals ja hem anat comentant més amunt (Taula 2).

**Taula 2. Resum del resultat sobre la glicèmia dels assaigs clínics que han utilitzat teràpies anti-interleucines pro-inflamatòries .**

Diana	Fàrmacs	Interval de tractament	Sensibilitat a la insulina	Canvis en las citocines/paràmetres metabòlics
FNT	Ac. monoclonals	0*-4 setmanes	Sense canvis	Sense canvis
	Etanercept	4 setmanes a 20 mesos	Sense canvis	↓ PCR ↓ IL6 ↑ ADP ↓ Gb
	Infliximab	0*-24 setmanes	millora	↓ Gb ↓ Insulina
IL-1	Anakinra	13 setmanes	Sense canvis	↓ Gb
	XOMA 052	0*-24 setmanes	Sense canvis	↓ HbA1c
IKKβ JNKS6K	Salsalato	1-4 setmanes		↑ ADP ↓ Gb ↓ HbA1c ↓ 11β-HSD
IL-6	Tocilizumab	12 setmanes a 6 mesos	millora	↓ PCR ↓ Insulina ↑ ADP ↓ HbA1c

PCR: Proteïna C Reactiva. ADP: Adiponectina Gb: Glucosa basal; 11β-HSD: 11 beta hidroxisteroid deshidrogenasa

\*Dosi única

### **4.3. Defectes d'emmagatzematge de lípids.**

Una adequada capacitat del teixit adipós per a emmagatzemar els àcids grassos lliures (AGI) en forma de triglicèrids és molt important per tal d'evitar els efectes perjudicials que sabem que tenen en diferents òrgans insulino-sensibles. Els AGI s'han relacionat amb múltiples funcions, incloent l'increment de resistència a la insulina en teixit hepàtic i muscular, sensors de la sensació de gana a nivell del sistema nerviós central i, quan estan en elevades concentracions, són responsables de múltiples disfuncions adipocitàries. El fracàs d'una adequada i ràpida adaptació del teixit adipós a acumular un excés de lípids, provoca que aquests AGI arribin a altes concentracions a teixits insulino-sensibles a on posen en marxa diversos processos que resulten perjudicials. Un dels enzims claus en el procés de formació de triglicèrids en els adipòcits és la Lipo-proteïna-lipasa (LPL). Mentre la seva activitat es mantingui de forma adequada no hi haurà problema a l'hora de acumular lípids en el teixit adipós. Quan aquesta capacitat es vegi alterada, els AGI es dipositaran fora del teixit adipós, produint alguns dels efectes que hem comentat més amunt (51).

#### **4.3.1. Alteració de la capacitat lipolítica/lipogènica.**

Els pacients amb obesitat, acostumen a presentar un increment de la lipòlisi en estat basal, especialment a nivell del teixit adipós subcutani. Els adipòcits de mida més gran, acostumen a tenir una major activitat lipolítica el que comporta habitualment una menor sensibilitat a la insulina i a l'hora una inhibició de la activitat anti-lipolítica de la pròpia insulina. En condicions normals, aquests adipòcits acostumen a expressar més quantitat de gens com la lipasa sensible a les hormones (HSL), la lipasa dels triglicèrids (ATGL) i altres gens implicats en la formació de la gota lipídica i el transport de glicerol des de l'interior del adipòcit. Als pacients amb obesitat aquests gens es troben regulats de forma negativa, especialment en el teixit subcutani (52).

#### **4.3.2. Mida dels adipòcits i funcionalitat.**

La mida dels adipòcits pot variar, no sols per la distribució anatòmica a on es troben, si no també en funció de si el tipus de teixit és d'origen subcutani o visceral. Els treballs que hi ha fins ara, apunten a que la mida i l'origen dels adipòcits són importants a l'hora de definir una correcta funcionalitat, tan pel que fa al metabolisme dels greixos, com a la secreció de proteïnes pròpies del mateix. Possiblement les cèl·lules mare mesenquimals de les que acaben derivant els adipòcits, tinguin un

paper rellevant en el comportament diferencial que podem trobar entre les cèl·lules madures de persones primes i obeses. En aquest moment les dades en humans són molt escasses i caldrà esperar un temps fins disposar de dades sòlides.

## 5. Reflexions finals.

No hem d'oblidar que fisiològicament l'activació de moltes d'aquestes vies es duen a terme per adaptar-se i lluitar contra un ambient perniciosos. El propi sistema immune innat, es capaç d'alterar la despesa energètica ajudant a l'organisme a defensar-se de potencials patògens, mitjançant l'aportació adequada d'energia. La capacitat de tots aquests elements de regular l'acció de la insulina, pot ser dependent de la seva influència en modificar senyals lipídiques claus en el metabolisme dels adipòcits, entre d'altres. Cal plantejar-se doncs, si l'existència de una lleu resistència a la insulina i un cert estat pro-inflamatori, són en realitat perjudicials, almenys en els moments inicials del procés. La adaptabilitat fisiològica del procés que porta cap a l'obesitat, en una situació d'abundància energètica, podria prevenir una major guany de pes. De fet, hi ha gent que proposa que una reducció addicional de la acció de la insulina en aquest període inicial, fins i tot podria prevenir un major augment del pes en pacients obesos que siguin capaços de mantenir una adequada activitat física. Malauradament sabem d'altra banda, que la persistència de una resistència a la insulina mantinguda sobre una susceptibilitat genètica favorable, acaba conduint cap a la DM2 de forma indefectible. La teoria de la expandibilitat del teixit adipós, suggerida pel grup de Vidal Puig (53), si bé ha estat provada essencialment en models de ratolins, sembla que es va confirmant de forma parcial en estudis humans. Així, mentre el teixit adipós subcutani essencialment, sigui capaç de anar acumulant triglicèrids, els efectes lipotòxics dels AGI no apareixerien, i no s'acumularia greix fora del teixit adipós. Si això fos realment així, la clau de volta la tindriem esbrinant que fa que un teixit tingui més o menys capacitat per acumular triglicèrids, evitant la tan temuda lipo-toxicitat. Sigui quina sigui la teoria que resulti finalment vàlida (si és que només hi ha una teoria), sembla clar que el teixit adipós ha passat a ser un element actiu en la patogènesi de la resistència a la insulina i la posterior aparició de diabetis tipus 2. Com a element patogènic, veurem incrementar-se en un futur les teràpies dirigides a reconduir el funcionalisme d'aquest teixit o bé a potenciar la conversió cap a un teixit més consumidor d'energia com pot ser el teixit marró o beix.

## 6. Bibliografia.

- 1.- Olshansky SJ, Passaro DJ, Hershow RC, Layden J, Carnes BA, Brody J, Hayflick L, Butler RN, Allison DB, Ludwig DS A potential decline in life expectancy in the United States in the 21<sup>st</sup> century. *N Engl J Med* 2005; 352: 1138–1145.
- 2.- Hossain P, Kowar B, El Nahas M. **Obesity and diabetes in the developing world—a growing challenge** *N Engl J Med* 2007; 356: 213–215.
- 3.- Crispancho AG, Lazar MA. **Forming functional fat: a growing understanding of adipocyte differentiation** *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011;12: 722–734.
- 4.- Gesta S, Tseng YH, Kahn CR. **Developmental origin of fat: tracking obesity to its source** *Cell* 2007;131: 242–256.
- 5.- Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, Blomqvist L, Hoffstedt J, Näslund E, Britton T, Concha H, Hassan M, Rydén M, Frisén J, Arner P Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 2008;453: 783–787.
- 6.- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. **Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue** *Nature* 1994;372: 425–432.
- 7.- Ahima RS, Flier JS **Leptin**. *Annu Rev Physiol* 2000;62: 413–437.
- 8.- Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI **Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression**. *Nature* 1998;294: 897–891.
- 9.- Scherer P.E., Williams S., Fogliano M., Baldini G., Lodish H.F **A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes**. *Journal of Biological Chemistry* 1995;270: 26746-26749.
- 10.- Matsushita K, Yatsuya H, Tamakoshi K, Wada K, Otsuka R, Zhang H, Sugiura K, Kondo T, Murohara T, Toyoshima H **Inverse association between adiponectin and C-reactive protein in substantially healthy Japanese men**. *Atherosclerosis* 2006;188: 184-189.

- 11.- **Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, Shuldiner AR, Fried SK, McLenithan JC, Gong DW** Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;290 E1253–E1261.
- 12.- **Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N, Bodles AM, Phanavanh B, Lee MJ, Starks T, Kern LM, Spencer III HJ, McGehee Jr. RE, Fried SK, Kern PA** Human visfatin expression: relationship to insulin sensitivity, intramyocellular lipids, and inflammation *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92: 666–672.
- 13.- **Tang QQ, Lane MD** Adipogenesis: from stem cell to adipocyte. *Annu Rev Biochem* 2012;81: 715–736.
- 14.- **Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstone DS, Spiegelman BM, Mortensen RM** PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Mol Cell* 1999;4: 611–617.
- 15.- **Tontonoz P, Spiegelman BM** Fat and beyond: the diverse biology of PPARgamma. *Annu Rev Biochem* 2008;77: 289–312.
- 16.- **Ross SE, Hemati N, Longo KA, Bennett CN, Lucas PC, Erickson RL, MacDougald OA** Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science* 2000;289: 950–953.
- 17.- **Tchkonia T, Giorgadze N, Pirtskhalava T, Thomou T, DePonte M, Koo A, Forse RA, Chinnappan D, Martin-Ruiz C, von ZT, Kirkland JL** Fat depot-specific characteristics are retained in strains derived from single human preadipocytes *Diabetes* 2006;55: 2571–2578.
- 18.- **Karastergiou K, Fried SK, Xie H, Lee MJ, Divoux A, Rosencrantz MA, Chang RJ, Smith SR** Distinct developmental signatures of human abdominal and gluteal subcutaneous adipose tissue depots. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98: 362-371.
- 19.- **Cannon B, Nedergaard J** Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev* 2004;84: 277–359.

- 20.- **van Marken Lichtenbelt WD, Vanhomerig JW, Smulders NM, Drossaerts JM, Kemerink GJ, Bouvy ND, Schrauwen P, Teule GJ** Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N Engl J Med* 2009;360: 1500–1508.
- 21.- **Wang Q, Zhang M, Ning G, Gu W, Su T, Xu M, Li B, Wang W** Brown adipose tissue in humans is activated by elevated plasma catecholamines levels and is inversely related to central obesity. *PLoS One* 2011;6: e21006.
- 22.- **Harms M, Seale P** Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nature Medicine* 2013;19:1252–1263.
- 23.- **Wu J, Boström P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang AH, Khandekar M, Virtanen KA, Nuutila P, Schaart G, Huang K, Tu H, van Marken Lichtenbelt WD, Hoeks J, Enerbäck S, Schrauwen P, Spiegelman BM** Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* 2012;150: 366–376.
- 24.- **Fromme T, Klingenspor M** Uncoupling protein 1 expression and high-fat diets. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011;300, R1–R8.
- 25.- **Stanford KI, Middelbeek RJ, Townsend KL, An D, Nygaard EB, Hitchcox KM, Markan KR, Nakano K, Hirshman MF, Tseng YH, Goodyear LJ** Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. *J Clin Invest* 2013;123: 215–223.
- 26.- **Fernández-Veledo S, Vázquez-Carballo A, Vila-Bedmar R, Ceperuelo-Mallafré V, Vendrell J** Role of energy- and nutrient-sensing kinases AMP-activated protein kinase (AMPK) and mammalian target of rapamycin (mTOR) in adipocyte differentiation.. *IUBMB Life* 2013;65: 572-583.
- 27.- **Tobin L, Simonsen L, Bulow J** The dynamics of the microcirculation in the subcutaneous adipose tissue is impaired in the postprandial state in type 2 diabetes. *Clin Physiol Funct Imaging* 2011;31; 458–463.
- 28.- **Hodson L, Humphreys SM, Karpe F, Frayn KN** Metabolic signatures of human adipose tissue hypoxia in obesity. *Diabetes* 2013;62; 1417–1425.
- 29.- **Fernández-Real JM, Ricart W** Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev* 2003;24; 278-301.

- 30.- **Boura-Halfon S., Zick Y** Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;296; E581–E591.
- 31.- **Martinez FO, Helming L, Gordon S** Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. *Annu Rev Immunol* 2009;27; 451-483.
32. **Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI** Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998;394; 897–901.
- 33.- **Ellingsgaard H, Hauselmann I, Schuler B, Habib AM, Baggio LL, Meier DT, Eppler E, Bouzakri K, Wueest S, Muller YD, Hansen AM, Reinecke M, Konrad D, Gassmann M, Reimann F, Halban PA, Gromada J, Drucker DJ, Gribble FM, Ehses JA, Donath MY** Interleukin-6 enhances insulin secretion by increasing glucagon-like peptide-1 secretion from L cells and alpha cells. *Nat Med* 2011;17; 1481–1489.
- 34.- **Ogata A, Morishima A, Hirano T, Hishitani Y, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Tanaka T** Improvement of HbA1c during treatment with humanised anti-interleukin 6 receptor antibody, tocilizumab. *Ann Rheum Dis* 2011;70; 1164–1165.
- 35.- **Schultz O, Oberhauser F, Saech J, Rubbert-Roth A, Hahn M, Krone W, Laudes M** Effects of inhibition of interleukin-6 signaling on insulin sensitivity and lipoprotein (a) levels in human subjects with rheumatoid diseases. *PLoS ONE* 2010;5; e14328.
- 36.- **Nieto-Vazquez I, Fernandez-Veledo S, Kramer DK, Vila-Bedmar R, Garcia-Guerra L and Lorenzo M** Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch Physiol Biochem* 2008;114; 183-194.
- 37.- **Stanley TL, Zanni MV, Johnsen S, Rasheed S, Makimura H, Lee H, Khor VK, Ahima RS, Grinspoon SK** TNF-alpha antagonism with etanercept decreases glucose and increases the proportion of high molecular weight adiponectin in obese subjects with features of the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96; E146–E150.
- 38.- **Ferraz-Amaro I, Arce-Franco M, Muniz J, López-Fernández J, Hernández-Hernández V, Franco A, Quevedo J, Martínez-Martín J, Díaz-González F** Systemic



blockade of TNF- $\alpha$  does not improve insulin resistance in humans. *Horm Metab Res* 2011;43; 801–808.

39.- **Wascher TC, Lindeman JH, Sourij H, Kooistra T, Pacini G, Roden M** Chronic TNF- $\alpha$  neutralization does not improve insulin resistance or endothelial function in “healthy” men with metabolic syndrome. *Mol Med* 2011;17; 189–193.

40.- **Moschen AR, Molnar C, Enrich B, Geiger S, Ebenbichler CF, Tilg H** Adipose and liver expression of interleukin (IL)-1 family members in morbid obesity and effects of weight loss. *Mol Med* 2011;17; 840–845.

41.- **Donath MY, Shoelson SE** Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol* 2011;11; 98–107.

42.- **Ridker PM, Thuren T, Zalewski A, Libby P** Interleukin-1 $\alpha$  inhibition and the prevention of recurrent cardiovascular events: rationale and design of the Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study (CANTOS). *Am Heart J* 2011;162; 597–605.

43.- **Stienstra R, Tack CJ, Kanneganti TD, Joosten LA, Netea MG** The inflammasome puts obesity in the danger zone. *Cell Metab* 2012 15; 10-8.

44.- **Kumada M, Kihara S, Ouchi N, Kobayashi H, Okamoto, Ohashi K, Maeda K, Nagaretani H, Kishida K, Maeda N, Nagasawa A, Funahashi T, Matsuzawa Y** Adiponectin specifically increased tissue inhibitor of metalloproteinase-1 through interleukin-10 expression in human macrophages. *Circulation* 2004;109; 2046–2049.

45.- **Takemura Y, Ouchi N, Shibata R, Aprahamian T, Kirber MT, Summer RS, Kihara S, Walsh K** Adiponectin modulates inflammatory reactions via calreticulin receptor-dependent clearance of early apoptotic bodies. *J Clin Invest* 2007;117; 375–386.

46.- **Esposito K, Pontillo A, Giugliano F, Giugliano G, Marfella R, Nicoletti G, Giugliano D** Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88; 1055–1058.

47.- **Day RT, Cavaglieri RC, Feliers D** Apelin retards the progression of diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013;304; F788–F8.

- 48.- **Vázquez-Carballo A, Ceperuelo-Mallafré V, Chacón MR, Maymó-Masip E, Lorenzo M, Porras A, Vendrell J, Fernández-Veledo S** TWEAK prevents TNF- $\alpha$ -induced insulin resistance through PP2A activation in human adipocytes.. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;305; E101-12.
- 49.- **Maymó-Masip E, Fernández-Veledo S, Garcia España A, Vázquez-Carballo A, Tinahones FJ, García-Fuentes E, Garrifo-Sanchez L, Rodriguez Mdel M, Vendrell J, Chacón MR** The rise of soluble TWEAK levels in severely obese subjects after bariatric surgery may affect adipocyte-cytokine production induced by TNF $\alpha$ . *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98; E1323-33.
- 50.- **Tang T, Zhang J, Yin J, Staszkiwicz J, Gawronska-Kozak B, Mynatt R, Martin RJ, Keenan M, Gao Z, Ye J** Uncoupling of inflammation and insulin resistance by NF- $\kappa$ B in transgenic mice through induction of energy expenditure. *J Biol Chem* 2010;285; 4637–4644.
- 51.- **McQuaid SE, Hodson L, Neville MJ, Dennis AL, Cheeseman J, Humphreys SM, Ruge T, Gilbert M, Fielding BA, Frayn KN, Karpe F** Downregulation of adipose tissue fatty acid trafficking in obesity: a driver for ectopic fat deposition? *Diabetes* 2011;60; 47–55.
- 52.- **Miranda M, Escoté X, Ceperuelo-Mallafré V, Megía A, Caubet E, Näf S, Gómez JM, González-Clemente JM, Vicente V, Vendrell** Relation between human LPIN1, hypoxia and endoplasmic reticulum stress genes in subcutaneous and visceral adipose tissue *J Int J Obes* 2010;34: 679-686.
- 53.- **Virtue S, Vidal-Puig A** Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the Metabolic Syndrome – an allostatic perspective. *Biochim Biophys Acta* 2010;1801; 338–349.