



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**Disfunción endotelial en la obesidad y estados de
resistencia a la insulina**

Autora: Olga Ojeda Rifé

Tutora: Prof. Dra. Dolores Prieto Ocejo. Departamento de Fisiología Animal

Convocatoria: 18 Julio 2018

RESUMEN

La obesidad es un desorden metabólico que tiene cada vez más prevalencia a nivel mundial y contribuye significativamente al desarrollo y la progresión de la enfermedad cardiovascular que se desencadena por un factor principal: la disfunción endotelial. Para que ocurra la disfunción endotelial se tienen que producir una serie de eventos, principalmente dos, en los que coinciden la mayoría de estudios realizados, y son: inflamación y estrés oxidativo. Los adipocitos en la obesidad sufren una hipertrofia considerable, y el tejido adiposo que está expandido en este estado, queda también inflamado en parte por un estado de hipoxia, generando un fenotipo proinflamatorio caracterizado por una producción aumentada de especies reactivas de oxígeno (ROS), liberación excesiva de ácidos grasos libres (FFAs), alteración de la secreción de adipoquinas como leptina y resistina y citoquinas proinflamatorias como interleucina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral α (TNF- α), proteína quimioatrayente monocítica-1 (MCP-1) e inhibidor del activador de plasminógeno-1. Por otro lado, se ha observado en estos estados la expresión disminuida de adipoquinas protectoras antiinflamatorias como la adiponectina y la proteína 4 fijadora de ácido graso (FABP-4). Además, el tejido graso perivascular (PVAT) pierde sus propiedades anticontráctiles, para contribuir también a la secreción de adipoquinas y así mantener el estado de inflamación. La dilatación/relajación normal de los vasos inducida por el propio flujo sanguíneo, agonistas endógenos (principalmente óxido nítrico) o el propio metabolismo, se ve alterada y se correlaciona con esa cantidad excesiva de tejido adiposo visceral. La producción anormal del péptido vasoconstrictor endotelina-1 (ET-1) es otro factor importante en la generación de disfunción endotelial en la obesidad. Todos estos factores alteran los mecanismos de señalización del óxido nítrico (NO), que, además, junto con el estrés oxidativo va a ver comprometida su biodisponibilidad, que es finalmente la principal causa de la disfunción endotelial en obesidad. La obesidad, junto con otras enfermedades como, por ejemplo, diabetes mellitus tipo II (DMII), es una de las principales causas de resistencia a la insulina. Los mismos factores patogénicos que hemos comentado que producen disfunción endotelial son los que pueden agravar las rutas de señalización de la insulina en células endoteliales, y generar también problemas de vasodilatación/relajación mediada por insulina.

Palabras clave: Disfunción endotelial, obesidad, resistencia a la insulina, óxido nítrico, estrés oxidativo.

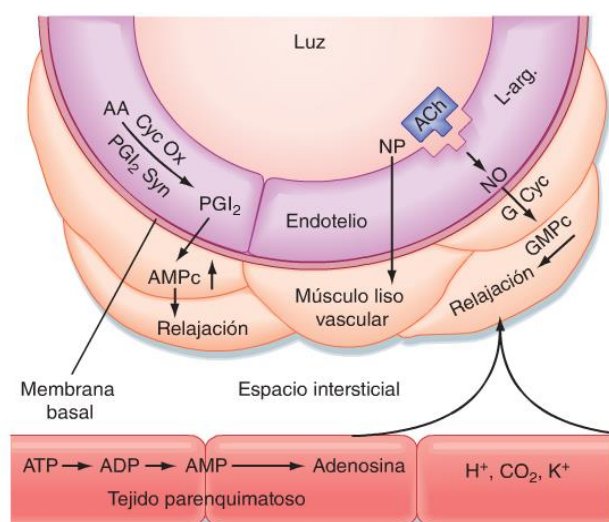
1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Papel vasoactivo del endotelio vascular

Las células endoteliales o endotelio son una monocapa de células que conforma el revestimiento interno de todos los vasos sanguíneos y linfáticos del sistema cardiovascular. El endotelio se encarga de mantener la homeostasis vascular regulando cada componente de su función, y su función más importante es el control del tono vasomotor [3].

La vasomoción es una conducta contráctil intrínseca del músculo liso vascular, y es dependiente de aportaciones externas. Estas aportaciones vienen principalmente del endotelio, que es una fuente importante de sustancias que producen la contracción o relajación del músculo liso vascular [37]. De entre los múltiples factores endoteliales que regulan el tono arteriolar, destacan tres sustancias [11]. Una de estas sustancias es la **prostaciclina (PGI₂)**, que puede relajar el músculo liso vascular gracias al aumento que produce de AMP_c y además inhibe la adherencia de plaquetas al endotelio y la agregación plaquetaria. Su formación se produce en el endotelio vascular a partir del ácido araquidónico y gracias a la enzima ciclooxigenasa (COX), principalmente en respuesta a *shear stress* (fuerzas de cizallamiento ejercidas por el flujo sanguíneo en el endotelio vascular).

Aunque las prostaciclinas tienen un papel importante en la dilatación/relajación vascular mediada por el endotelio, es todavía más importante el papel que ejerce el **óxido nítrico (NO)**, el principal componente del factor de relajación derivado del endotelio. Cuando las células endoteliales son estimuladas por acetilcolina u otros compuestos vasodilatadores (ATP, bradiquinina, serotonina, sustancia P, histamina...), o por el propio flujo sanguíneo, se produce la liberación de NO. Estas sustancias actúan mediante su unión a receptores



acoplados a proteínas G que producen la activación dependiente de Ca²⁺-calmodulina de la enzima que sintetiza el NO en el endotelio: **óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS)**. Estos compuestos no producen vasodilatación en los vasos que no tienen endotelio, por tanto, es una función exclusiva del endotelio. El NO activa la guanilato ciclasa del músculo liso vascular para que aumente la

Figura 1: vasodilatación mediada por el endotelio y no mediada por el endotelio. Recuperado de: Bruce M. Koeppen and Bruce A. Stanton, *Berne y Levy Fisiología*.

concentración de GMP_c , lo que produce relajación al reducir la sensibilidad de los miofilamentos frente a la concentración de Ca^{++} [37].

La tercera de estas sustancias son los **factores hiperpolarizantes derivados de endotelio (EDHF)**. Al contrario que para el NO y las prostaciclinas, las bases moleculares y mecanismo de relajación del endotelio por parte de estas sustancias son todavía controvertidos. Está comúnmente aceptado que en esos factores se incluyen: ácidos epoxieicosatrienoicos (EETs), derivados de un metabolito de la epoxioxigenasa del citocromo P450 (CYP); comunicación eléctrica por uniones gap (*gap junctions*); iones de K^+ derivados de endotelio; sulfuro de hidrógeno y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) derivado de endotelio [11]. Los EETs son rápidamente metabolizados por una epóxido hidrolasa soluble para dar lugar a los, generalmente menos activos, ácidos dihidroxieicosatrienoicos. Después de que las células endoteliales sean estimuladas por distintos agonistas, un aumento en el flujo de calcio endotelial puede, potencialmente, activar canales de K^+ dependientes de Ca^{++} . Siguiendo esta activación de canales de K_{Ca} en la célula endotelial, la hiperpolarización de células del músculo liso vascular (VSMC), es evocada preferentemente por *gap junctions* mioendoteliales gracias al paso de una corriente o difusión de K^+ . Todo esto activa un factor rectificador, Kir 2.1 de canales de K^+ , Na^+ o K^+ -ATPasa en las VSMC para cerrar los canales de Ca^{2+} voltaje-dependientes, resultando en la relajación de VSMC. Por tanto, los *gap junctions* mioendoteliales es el medio por el cual la hiperpolarización de células endoteliales se transfiere a las VSMC, resultando en su relajación.

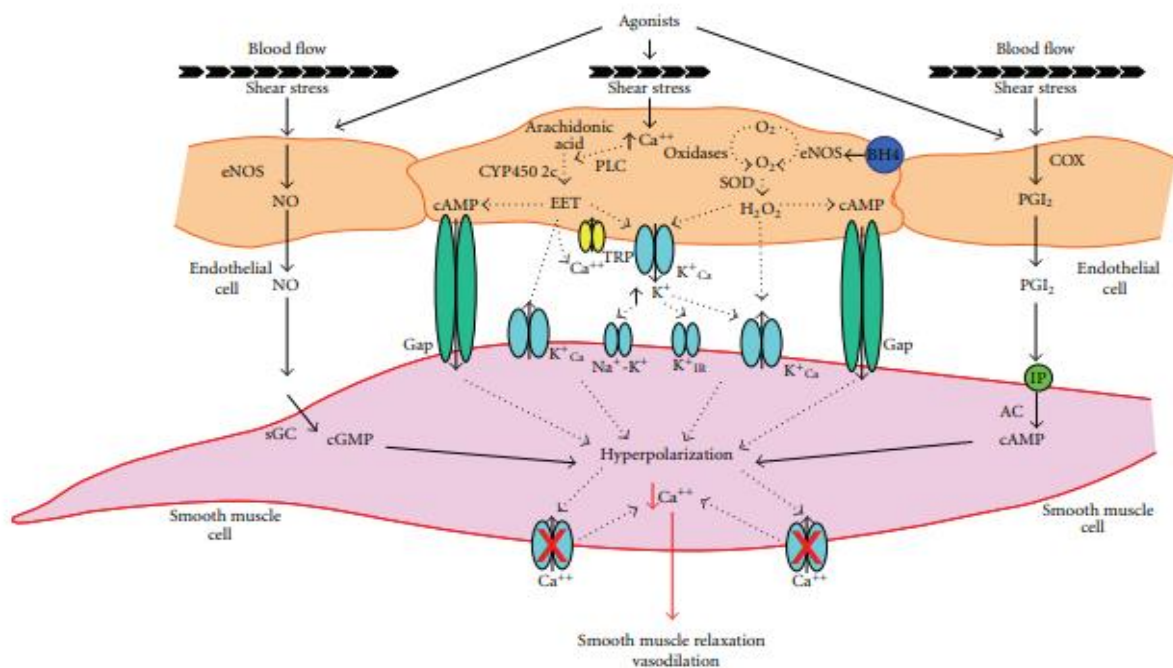


Figura 2: Mechanisms for endothelial cell mediated relaxation. Recuperado de: Muhiddin A.Ozkor and Arshed A.Quyyumi, Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor and Vascular Function. *Cardiology Research and Practice*.

En la figura se pueden observar los mecanismos normales de relajación mediados por la célula endotelial. Un agonista (bradiquinina, acetilcolina o sustancia P), o *shear stress*, aumenta la actividad de la eNOS y de la COX, que darán lugar a NO y PGI₂. Éstos producen la dilatación/relajación del músculo liso del vaso sanguíneo. También existen múltiples mecanismos para los EDHF, pero en general, la hiperpolarización del músculo liso resulta en su relajación por el cierre de canales dependientes de voltaje, que da lugar a una caída en la concentración de calcio y por tanto a la consecuente vasodilatación. La acción de la eNOS (con su cofactor tetrahidropterina) y de las oxidasas sobre el O₂ produce la especie reactiva **superóxido (O₂⁻)**, que por dismutación gracias a la superóxido dismutasa genera **peróxido de hidrógeno (H₂O₂)**, que también puede causar hiperpolarización del músculo liso mediante la activación de canales de K⁺ dependientes de Ca⁺⁺ en endotelio y en el propio músculo liso.

Por otro lado, y después de ver la capacidad vasodilatadora de estas moléculas, es importante conocer la existencia de un péptido endotelial con acción vasoconstrictora, proinflamatoria y mitógena. Se trata de la **endotelina-1 (ET-1)**. Las acciones vasculares que lleva a cabo la ET-1 son mediadas gracias a dos receptores de membrana acoplados a proteínas G, ET_A y ET_B [21]. Una de las acciones de este péptido y que discutiremos más adelante, es que puede actuar como activador de la enzima **NADPH oxidasa**, que es una de las principales fuentes de producción del radical O₂⁻ en la pared vascular, que, como también se comentará más adelante, juega un papel importante en la disfunción endotelial. La NADPH oxidasa es una enzima generadora de **especies reactivas de oxígeno (ROS)** que cataliza la reacción de reducción del O₂ a O₂⁻ y/o H₂O₂ utilizando como donante de electrones el NADPH.

Efectos de la insulina en la vasculatura

Los efectos de la insulina sobre la vasculatura vienen determinados por los diferentes mecanismos celulares de señalización que se producen gracias a la activación/estimulación de sus receptores. Normalmente, la señalización metabólica de la insulina resulta en vasodilatación gracias a un aumento en la producción y biodisponibilidad de NO. Sin embargo, como veremos más adelante, en estados de resistencia a la insulina produce vasoconstricción [23].

La unión de la insulina al receptor de insulina en el individuo sano desencadena su propia fosforilación y activación gracias a la actividad quinasa intrínseca a él. Esto es, la fosforilación de la tirosina presente en las proteínas del **sustrato receptor de insulina (IRS)**. La fosforilación de las moléculas del IRS genera la creación de zonas de unión de dominio SH2 (*Src homology 2*) que sirven como puntos de unión para proteínas que también

contengan el dominio SH2 como la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) y Grb-2. La unión de PI3K al IRS-1 activa la subunidad catalítica p110 de PI3K, resultando en la producción de fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP₃). Éste, a su vez, promueve la fosforilación y activación de la proteína quinasa-1 dependiente de 3-fosfoinositido (PDK-1), que activa diferentes quinasas de serina y treonina como la **Akt**. En el endotelio vascular, la Akt activa la eNOS por fosforilación de un residuo de serina 1177. La eNOS cataliza la conversión de L-arginina y O₂ a L-citrulina y NO. La insulina también promueve la fosforilación del resto de treonina 495 de la eNOS en las células endoteliales. La desfosforilación de este mismo residuo está relacionada con el desacoplamiento de la eNOS y producción aumentada de ROS. El NO producido por la eNOS disminuye el tono vascular, la proliferación de VSMC, la adhesión de células inflamatorias y la agregación plaquetaria en el endotelio [23]. Además, la insulina modula la producción de prostaglandinas (PGI₂ principalmente) y EDHF con todo lo que ello conlleva. Como ya se ha comentado, aparte de vasodilatación, la insulina puede producir vasoconstricción, pero principalmente en estados de resistencia a la misma. Estos efectos de la insulina están mediados, en parte, por la producción aumentada de ET-1. Esta se une a su receptor ET_A para producir vasoconstricción, elevar el estrés oxidativo y promover el crecimiento celular y mitosis de VSMC [23]. Se ha visto que, niveles de insulina por encima de los fisiológicos aumentan la producción de ET-1. También se ha demostrado que la insulina activa el receptor del factor de crecimiento parecido a insulina-1 (IGF-1) (IGF1-R), estimulando la producción de NO. Pero la producción de NO mediante este mecanismo alternativo se limita por el hecho de que la insulina presenta menor afinidad por la unión al IGF1-R que a su propio receptor (IR), por tanto, en condiciones de resistencia a la insulina, que hay más receptores IGF1-R que IR, la insulina actúa lo mismo, o menos, y la producción de NO es menor.

Obesidad y diabetes

La diabetes mellitus tipo II (DMII) afecta a aproximadamente 347 millones de personas en todo el mundo. La prevalencia de esta enfermedad está asociada a las alarmantes tasas de inactividad física de hoy en día y a la sobre-alimentación. Esto último está también asociado a la “pandemia” actual de obesidad. La resistencia metabólica a las acciones de la insulina, es decir, resistencia a la insulina, que consiste principalmente en la supresión de la gluconeogénesis hepática y la disponibilidad de glucosa en músculo esquelético, es un evento que ocurre en ambas enfermedades [23].

Esta resistencia a la insulina que puede derivar de ambas enfermedades, pero que van de la mano, es un factor de riesgo para la disfunción endotelial, que en última instancia puede conducir a la enfermedad cardiovascular. Pero la resistencia a la insulina es sólo un factor más que contribuye al daño endotelial imprescindible en la enfermedad cardiovascular, se ha comprobado que la inflamación y el estrés oxidativo producido en la obesidad son factores clave para la producción de daño endotelial.

2. OBJETIVOS

- Determinar los mecanismos desencadenantes del daño endotelial en la obesidad.
- Conocer la importancia de las citoquinas proinflamatorias y su papel en el daño endotelial.
- Entender la relación que existe entre obesidad, estados de resistencia a la insulina y daño endotelial.

3. METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se ha hecho una revisión bibliográfica, obteniendo información principalmente de dos fuentes: libros y artículos de divulgación científica. Estos últimos se han consultado en la base de datos *PubMed* y la *American Heart Association*, excluyendo aquellos con una antigüedad superior a diez años, exceptuando alguno que sigue estando actualizado y sienta muy bien las bases del tema en cuestión (aunque en el caso de los libros, tienen más antigüedad, pero se ha usado información básica que sigue actualizada al día de hoy). Toda esta información, a excepción de uno de los libros, estaba redactada en inglés, aunque en la búsqueda se ha incluido ambos idiomas español e inglés.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La prevalencia de la obesidad en el mundo occidental ha aumentado a lo largo de los años. Es la enfermedad metabólica más frecuente en el siglo XXI y que más repercusiones socio-sanitarias conlleva. La obesidad es una enfermedad metabólica que tiene sus mayores riesgos para la salud en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares derivadas, principalmente, de la producción de daño endotelial. A mediados de los años 90, el concepto de tejido adiposo como tejido de almacenamiento cambió radicalmente para entenderlo como un órgano endocrino. Esto fue debido, principalmente, al descubrimiento de tres moléculas expresadas o secretas por el tejido adiposo: TNF- α ; IL-6 y leptina. Más recientemente, se han

identificado otras dos adipoquinas involucradas sobre todo en la resistencia a la insulina: resistina y adiponectina [38].

Disfunción endotelial en la obesidad. Vasodilatación

1. Óxido nítrico (NO)

Como se ha dicho antes, la modificación postraduccional de la eNOS se produce mediante la fosforilación de un resto de serina 1177 gracias a quinasas de serina como la PKB/Akt quinasa, quinasa activada por AMP (AMPK), protein-quinasa A (PKA), protein-quinasa G (PKG) y quinasa II dependiente de calmodulina (CaMKII). La fosforilación de la eNOS por la quinasa Akt se estimula por insulina y otros agentes como el factor de crecimiento endotelio-vascular (VEGF), receptores β -adrenérgicos, estatinas y también factores mecánicos como *shear stress* o un aumento del flujo sanguíneo. La leptina y la adiponectina estimulan este mecanismo, la primera por activación de la quinasa Akt y la segunda utiliza la vía de AMPK, dando lugar finalmente a una mayor producción de NO. Sin embargo, TNF- α , IL-6 y resistina disminuyen la fosforilación de ese resto de serina de la eNOS, resultando en una menor actividad de la misma y menor producción de NO [22].

2. Prostanoides

La COX metaboliza el ácido araquidónico en el endotelio para generar prostanoides vasodilatadores (PGI₂, PGE₂) y vasoconstrictores (TXA₂, PGH₂). En vasos sanguíneos sanos, estos prostanoides se forman principalmente gracias a la acción de la COX-1, que es la isoforma de la enzima presente en endotelio. Sin embargo, la COX-2 también puede generar estos prostanoides, pero lo hace generalmente cuando se le induce mediante estímulos inflamatorios, físicos y mitogénicos. Un desequilibrio en la producción de prostanoides vasodilatadores y prostanoides vasoconstrictores contribuye activamente a la disfunción endotelial, principalmente cuando hay una disminución de la producción de sustancias vasodilatadoras. Por ejemplo, la actividad alterada de la COX-2 ha sido asociada a un aumento en la vasoconstricción renal, a la disfunción endotelial y a daño renal en desórdenes metabólicos y problemas cardiovasculares como la hipertensión o la diabetes. La COX-2 también se ha visto involucrada en la respuesta inflamatoria renal en la obesidad [16].

3. EDHF

La relajación de los vasos sanguíneos por el NO es fácilmente alterada, mientras que la respuesta mediada por los EDHF generalmente se encuentra preservada, o incluso aumentada para mantener la homeostasis vascular en estados de resistencia a la insulina [11]. Es por esto que se ha sugerido que los EDHF actúan para compensar la reducida biodisponibilidad de NO en estos estados [22].

Disfunción endotelial en la obesidad. Vasoconstricción

1. TNF- α

El **factor de necrosis tumoral- α (TNF- α)** es una molécula inicialmente descrita como una citoquina proinflamatoria liberada por monocitos y macrófagos en respuesta a daño o infección. Juega un papel complejo en la respuesta a daño e infecciones, angiogénesis, apoptosis y otros procesos fisiológicos [35]. Esta sustancia, al igual que la ET-1, puede inducir también la producción de ROS en el endotelio, aunque como más adelante explicaremos, su papel en este tema está más ligado a la producción de resistencia a la insulina.

Funciona gracias a dos receptores, TNFR1 y TNFR2, que se encuentran en la superficie de la mayoría de células del organismo. Se ha visto que la expresión de TNF- α y sus receptores se encuentra aumentada en obesidad (y resistencia a la insulina) tanto en humanos como en roedores. Además, existen datos que confirman la habilidad del TNF- α para modular componentes de la cascada de señalización de la insulina, producir efectos en la oxidación de las grasas y llevar a cabo la apoptosis de adipocitos, así como inducir la actividad de otras adipocinas [38].

2. ET-1

Se ha asociado una actividad aumentada de ET-1 a la disfunción endotelial en los estados de resistencia a la insulina de la obesidad y de la DMII. La ET-1 estimula la producción de ROS producidas por la enzima NADPH oxidasa, lo cual inhibe las relajaciones endoteliales mediadas por NO y por el contrario contribuye a la constricción de los vasos por interacciones superóxido-NO. La generación de ROS en vasos sanos gracias a la ET-1 está mediada por el receptor ET_A, mientras que se ha visto que en los vasos de animales obesos contribuyen ambos receptores ET_A y ET_B [21].

Disfunción endotelial en la obesidad. Estrés oxidativo

Existen muchos factores que pueden comprometer la acción “protectora” del NO en la pared vascular, pero la reducción de la biodisponibilidad de NO debido a estrés oxidativo es considerada la causa principal de disfunción endotelial en la obesidad. El NO que se produce por la síntesis de la eNOS puede ser rápidamente inactivado por reacción con aniones superóxido para dar lugar al anión peroxinitrito (OONO^-), que es un agente oxidante muy potente y puede producir daño oxidativo al DNA, proteínas y lípidos (en general macromoléculas importantes), producir el desacoplamiento de la eNOS, aumentar la apoptosis celular, generar daño tisular e inflamación. También se ha visto que se producen ROS en el endotelio gracias a la enzima **xantina oxidasa** y no sólo por parte de la NADPH oxidasa como comentábamos hasta ahora. El aumento de la producción de ROS en respuesta a altos niveles de lípidos o citoquinas, activa un **factor nuclear de transcripción sensible a estrés oxidativo (NF- κ B)** que aumenta la NADPH oxidasa en las células endoteliales de individuos obesos y regula la expresión de genes que codifican para moléculas de adhesión, COX-2 y citoquinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6 y **proteína reactiva C (PRC)**, que también pueden activar a la NADPH oxidasa y aumentar los niveles de ROS, dañando todavía más la función endotelial. El aumento de ROS derivadas de NADPH oxidasas y xantina oxidasas puede dar lugar al desacoplamiento de la eNOS. El peroxinitrito produce el desacoplamiento de la eNOS reduciendo el transporte celular de su sustrato, la L-arginina, oxidando el precursor de la eNOS BH₄ y desencadenando la degradación dependiente de proteasoma de una de las enzimas limitantes en la síntesis de BH₄. El desacoplamiento de la eNOS genera por tanto superóxido en vez de NO, que continúa alterando toda la señalización celular del endotelio. Además, la actividad aumentada de NADPH oxidasa y los ROS se ha asociado con hipertrofia del **tejido adiposo perivascular (PVAT)**, infiltración de células inflamatorias, expresión vascular aumentada de moléculas de adhesión, **proteína quimioatrayente monocítica (MCP-1)**, citoquinas proinflamatorias y niveles bajos de adiponectina y superóxido dismutasa en PVAT. El aumento de ROS en el PVAT inflamado se ha asociado también al desacoplamiento de la eNOS y reducción de las propiedades anticontráctiles que posee el tejido.

Como se ha visto antes, prostanoides como PGI₂ son otro componente del endotelio capaz de producir vasorelajación, y que por tanto también va a ser susceptibles de este daño oxidativo. La vasorelajación mediada por prostanoides, concretamente prostaciclina PGI₂ va a estar impedida por el daño oxidativo, ya que se ha visto que se produce una disminución de la misma debido a la nitración de residuos de tirosina de la enzima que la produce (**PGI₂**

sintasa). Se ha podido comprobar en ratas que el peroxinitrito es capaz de inactivar a la PGI₂ sintasa nitrando restos de tirosina y también gracias a la oxidación aumentada de ácidos grasos en la mitocondria.

Disfunción endotelial en la obesidad. Daño oxidativo de lípidos

1. Ácidos grasos libres (FFAs)

La insulina es un mediador clave en la vasodilatación mediada por NO, y la quinasa de AMP (AMPK) es importante en la vía de señalización de la insulina, pero, además, tiene un papel en la oxidación de ácidos grasos. La AMPK se activa por una relación AMP/ATP aumentada debido a estímulos como por ejemplo ejercicio físico o agentes farmacológicos que le activen, y puede, en algún momento, fosforilarse e inactivar acetil-CoA carboxilasas (ACC), que catalizan la síntesis de malonil-CoA y esto último es importante para la síntesis de ácidos grasos, mecanismo que usa la AMPK para aumentar la oxidación de ácidos grasos. La AMPK también puede modular el estrés oxidativo y la señalización inflamatoria mediada por NF-κB. Los **ácidos grasos libres (FFAs)** regulan la producción de NO mediada por insulina y flujo sanguíneo, disminuyéndola, por dos vías: reduciendo la fosforilación del resto de tirosina del IRS-1/2 e inhibiendo el mecanismo de PI3K/Akt, que no solo controla la asimilación de glucosa estimulada por insulina, también regula la eNOS y su producción de NO en las células endoteliales. Un estudio ha mostrado que niveles de FFAs aumentados en sangre impide la vasodilatación endotelio dependiente, mientras que la independiente de endotelio se mantiene intacta, lo cual sugiere que los FFAs tienen un rol inhibitorio en la producción de NO en el endotelio.

2. Tejido adiposo perivascular (PVAT)

La masa de tejido perivascular, al igual que la masa total de tejido adiposo, se encuentra incrementada en la obesidad. Este aumento de masa se debe tanto a la expansión de adipocitos como a su proliferación. Las alteraciones del tejido adiposo en enfermedades como la obesidad, comprenden factores más complejos que un simple incremento en masa, como cambios en la composición de los lípidos que lo conforman, infiltración de macrófagos y linfocitos...etc. Un factor importante en la obesidad es un bajo grado de inflamación sistémica que también está presente en tejido adiposo, manteniendo así un desequilibrio entre la secreción de adipoquinas, estrés oxidativo, hipoxia y resistencia a la insulina. El PVAT puede actuar de una forma paracrina en el vaso sanguíneo, es capaz de liberar un gran número

de sustancias como adipoquinas, citoquinas, ROS, moléculas gaseosas, etc. Estas moléculas le confieren la capacidad de actuar como mecanismo anticontráctil de los vasos, que en la obesidad sufre alteraciones, precisamente por el desequilibrio de secreción de adipoquinas, estrés oxidativo e inflamación que tiene lugar en esta enfermedad [26].

Disfunción endotelial en la obesidad. Inflamación-adipoquinas

1. TNF- α

El estado de obesidad regula la expresión e induce la liberación de citoquinas como TNF- α , MCP-1, IL-6, etc. del tejido adiposo y el PVAT, ya que, como se ha comentado previamente, actúan en cierto modo como órganos endocrinos. Los niveles de TNF- α se encuentran aumentados en estos tejidos en personas obesas, que, además de interferir con la señalización normal de la insulina como comentaremos más a fondo, regula la adhesión de moléculas en el endotelio (aumentándola), regula la expresión de la eNOS (disminuyéndola) inhibiendo su fosforilación por PI3K y, además, activa directamente a la NADPH oxidasa aumentando en consecuencia el estrés oxidativo. También estimula la lipólisis, resultando en liberación de ácidos grasos libres, todo ello contribuye al desarrollo de la disfunción endotelial en individuos obesos [22].

2. IL-6

Los niveles de IL-6 aumentan proporcionalmente al grado de tejido adiposo y alteran la función endotelial inhibiendo la eNOS, produciendo ROS, induciendo la expresión de moléculas de adhesión y formación de trombos. Además, la IL-6 aumenta la estabilidad de un regulador negativo de la eNOS, caveolina-1, reduciendo la actividad de la enzima sintetizadora de NO y por tanto de NO [22].

3. Leptina y adiponectina

La leptina y la adiponectina tienen efectos contrapuestos en la inflamación y en los estados de resistencia a la insulina. La leptina regula (aumentando) la liberación de citoquinas como TNF- α e IL-6. En contraste, la adiponectina tiene propiedades antiinflamatorias, ya que regula la expresión y liberación (disminuyéndolas) de citoquinas y mediadores proinflamatorios [19]. La deficiencia de leptina está asociada con obesidad severa y resistencia a la insulina, de hecho, la obesidad está considerada como un estado de resistencia a la leptina, con altos niveles de leptina circulante. La exposición aguda a leptina estimula la producción de NO en

las células endoteliales gracias a la fosforilación de la eNOS dependiente de Akt, potencia la producción de NO inducida por insulina y genera vasodilatación dependiente de endotelio. La leptina también estimula la liberación de ET-1 de las células endoteliales. La hiperleptinemia, por otro lado, reduce la L-arginina intracelular y aumenta el superóxido y la formación de peroxinitrito en las células endoteliales, resultando en el desacoplamiento de la eNOS y por tanto en disfunción endotelial, como resultado también de una disminución de NO. La leptina tiene efectos proinflamatorios y estimula la producción de MCP-1 mediante inducción mitocondrial de ROS.

La adiponectina liberada de tejido adiposo es un regulador de la función endotelial y que tiene efectos protectores sobre el sistema cardiovascular en parte gracias a la estimulación de producción de NO en células endoteliales por la fosforilación de la eNOS dependiente de AMPK y la inhibición de la acumulación de ROS inducida por ácidos grasos libres. La adiponectina inhibe la activación inflamatoria del endotelio y la adhesión de monocitos. Los niveles de adiponectina en plasma se encuentran disminuidos en obesidad y están asociados a enfermedades cardiovasculares. Además, en el PVAT se ha encontrado una expresión reducida de adiponectina y por tanto de sus efectos cardioprotectores mediados por el NO, inhabilitados por hipoxia e inflamación, todo ello en individuos obesos y asociado a disfunción endotelial [22].

4. Resistina

Los niveles de resistina se encuentran aumentados en la obesidad y puede ser que contribuya a la disfunción endotelial estimulando la producción de citoquinas proinflamatorias como TNF- α , MCP-1 e IL-6 mediante NF-kB, induciendo la liberación de ET-1, aumentando la expresión de moléculas de adhesión, promoviendo la proliferación y migración de células endoteliales y aumentando el estrés oxidativo por una elevada actividad de la NADPH oxidasa. La resistina induce directamente la regulación negativa de la eNOS y reduce la producción de NO por una sobreproducción de ROS. Impide la relajación del endotelio ya sea esta mediada por NO o independiente de NO. También impide la señalización de la insulina y la fosforilación de la eNOS en las células endoteliales [22].

Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina es una característica común de desórdenes metabólicos como DMII, obesidad, intolerancia a la glucosa y dislipidemias en general, pero también está presente en enfermedades como hipertensión arterial, síndrome de la arteria coronaria,

ateroesclerosis...etc. que la principal característica que comparten es la disfunción endotelial. En individuos obesos se ha visto que los vasos son menos sensibles a la vasodilatación inducida por insulina. Un detalle esencial de la resistencia metabólica y vascular a la insulina, es la alteración selectiva de la ruta PI3K/Akt, mientras que la MAPK/ET-1 se mantiene intacta o incluso aumentada. A nivel molecular, las alteraciones de la ruta de señalización PI3K/Akt se ha visto que inhabilitan los efectos endoteliales de la insulina. Los ratones “IRKO” presentan resistencia metabólica a la insulina y fosforilación de la eNOS estimulada por insulina impedida, que resulta en producción de NO endotelial inducida por insulina también impedida. En arterias de individuos con resistencia a la insulina, la ruta defectuosa de señalización de la insulina y sus acciones vasculares impedidas se han asociado a la fosforilación inducida por la insulina del resto de tirosina de IRS-1 e IRS-2 también impedida, o a una reducción en la expresión o actividad de IRS-2, fosforilación de Akt y/o eNOS inducida por insulina reducida, y expresión disminuida de la eNOS [22].

1. Papel de los ácidos grasos libres

Aunque los ácidos grasos tienen un papel importante como fuente de energía para el organismo, en estados de ayuno, anormalidades en su metabolismo puede contribuir a la patogénesis del síndrome metabólico. En obesidad, altos niveles de ácidos grasos libres en plasma pueden estar debidos tanto a una mayor liberación de estos por parte del tejido adiposo expandido, o un problema en su metabolismo y eliminación. Estos altos niveles de FFAs inhiben la acción antilipolítica de la insulina, que por tanto hace que se produzca una mayor liberación de estos ácidos a la circulación general. Varios estudios clínicos han mostrado que esos niveles elevados de FFAs conduce a un estado de resistencia a la insulina, y que, por tanto, reducir estos niveles puede ser beneficioso para la captación de glucosa estimulada por insulina. Existen varios mecanismos por los cuales estos ácidos grasos pueden generar estados de resistencia a la insulina, como, por ejemplo: la acumulación intracelular de triglicéridos (TG) y diacilglicerol (DAG); activación de quinasas de serina y treonina; una reducción en la fosforilación del resto de tirosina del IRS; impedimento del mecanismo de quinasa 3 IRS/fosfoinositol involucrado en la señalización de la insulina. Induciendo un estado de resistencia a la insulina en todos los principales órganos diana para la insulina, incluyendo las células endoteliales, hígado y músculo esquelético, estos FFAs contribuyen a la progresión de la DMII, hipertensión, dislipidemia...y otras enfermedades cardiovasculares. La DMII, que se caracteriza principalmente por un estado crónico de resistencia a la insulina con disfunción progresiva de células β del páncreas, se asocia precisamente con

hipertrigliceridemia o con elevados niveles de FFAs en plasma sanguíneo. Los FFAs son fuentes muy significativas de ROS, que, como es lógico, contribuye en gran medida al estrés oxidativo, no sólo en células endoteliales, sino también en hepatocitos o células inmunológicas. Los FFAs llevan a la producción de ROS principalmente por la activación de la NADPH oxidasa por la vía de la PKC. Esta última también se ha visto que contribuye a la inflamación inducida por los FFAs. Esta inflamación también está relacionada con la señalización inflamatoria de IKK/NF- κ B, y conduce finalmente a la activación de TNF- α , IL1- β e IL-6 y también niveles sanguíneos aumentados de MCP-1. Todos estos componentes inflamatorios juegan un papel importante para la producción de resistencia a la insulina en células endoteliales [4].

La exposición constante de la vasculatura a niveles anormalmente altos de ácido grasos libres circulantes en obesidad, puede, simultáneamente causar también resistencia a la insulina en tejidos “metabólicos” y disfunción endotelial en tejido vascular. Los altos niveles de FFAs impiden la asimilación de glucosa y la producción de NO mediada por insulina [22].

2. TNF- α

En el individuo sano, la insulina se une a su receptor en la superficie de la célula y desencadena una cascada de fosforilación que resulta en la translocación del **transportador de glucosa insulino-dependiente GLUT-4** del interior de la célula hacia la membrana plasmática. El TNF- α reduce la disponibilidad del transportador GLUT-4 en el adipocito, reduciendo la expresión del gen que lo codifica, disminuyendo los niveles de la proteína, o ambas. Con esa poca disponibilidad del transportador, la unión de la insulina con su receptor queda significativamente inhibida. El TNF- α también atenúa la señal más allá del transportador de glucosa. La unión normal de insulina a su receptor produce la autofosforilación de la tirosina de la parte intracelular del IR con la subsecuente fosforilación de la tirosina del sustrato 1 del receptor de insulina (IRS-1). Pues bien, la incubación de células con TNF- α resulta en una fosforilación de la serina de estas moléculas, que hace que no ocurra la fosforilación de la tirosina como se produce de forma normal. Gracias a estos estudios, se puede concluir que el TNF- α juega un papel importante en la inhibición de la cascada normal de señalización de la insulina [38]. Y por tanto en la resistencia a la insulina producida por la obesidad, ya que el TNF- α se encuentra aumentado en individuos obesos.

3. Resistina

La resistina humana juega un papel importante en la regulación de la respuesta inflamatoria. Regula la expresión de citoquinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6, MCP-1 en macrófagos, células hepáticas...etc por la vía del NF- κ B. La expresión de resistina se ha identificado con marcadores inflamatorios y fibrinolíticos como la PRC, TNF- α e IL-6 tanto en la población general como en individuos con problemas cardiovasculares o con DMII [8]. Aun conociendo esto, todavía no se ha encontrado relación entre la resistina inducida por señales inflamatorias y la aparición de resistencia a la insulina en humanos.

4. Estrés oxidativo

Uno de los mecanismos que puede relacionar los altos niveles de FFAs e inflamación, es el estrés oxidativo que se puede generar tanto por transporte de electrones en la mitocondria o por las NADPH oxidasas. La ingesta de grasas aumenta los niveles de FFAs y la producción de ROS y marcadores inflamatorios, dificultando la vasodilatación de los vasos inducida por el propio flujo sanguíneo. Los FFAs pueden estimular a las NADPH oxidasas para producir ROS a la vez que se produce DAG y la activación de PKC (involucrada en varias cascadas de señales que suele dar lugar siempre a constricción) en células endoteliales. Las ROS y la insulina se reconocen como dos factores clave en la patogénesis de la disfunción endotelial en estados de resistencia a la insulina y la activación de NADPH oxidasas por insulina y producción de ROS se encuentran aumentadas junto a una disminución de la biodisponibilidad de NO y vasodilatación inducida por insulina impedida [22].

5. CONCLUSIONES

Una cantidad excesiva de tejido adiposo, así como lípidos circulantes en exceso consecuencia de lo primero, son causas importantes e independientes para la disfunción endotelial y la resistencia a la insulina. La disfunción endotelial es una manifestación temprana de disfunción vascular que puede dar lugar a enfermedades cardiovasculares potencialmente graves y dañinas para la salud y a su vez precede a la resistencia vascular a la insulina o va acompañada de ella.

El aspecto más crítico de la disfunción endotelial es la reducida biodisponibilidad de NO producida, entre otros, por inflamación, estrés oxidativo y toxicidad de lípidos (oxidación). Además de las adipoquinas secretadas por parte del tejido adiposo expandido en obesidad, cabe destacar el papel del PVAT en el aumento de esas adipoquinas y de su contribución al

estrés oxidativo y toxicidad de lípidos y también el de los ácidos grasos libres en los estados de resistencia a la insulina.

Los principales desencadenantes de resistencia a la insulina son hiperglucemia, estrés oxidativo y dislipidemia, todos ellos factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. Las rutas de señalización de la insulina alteradas alteran la captación de glucosa inducida por insulina y funciones endoteliales (vasodilatación).

La restricción calórica con pérdida de peso, ejercicio físico y una dieta equilibrada y variada han probado ser muy beneficiosos en el tratamiento de estas patologías. Los métodos terapéuticos farmacológicos como análogos a la insulina, estatinas y fármacos que intervienen en el sistema renina angiotensina-aldosterona son capaces de restablecer en parte la síntesis de NO y reducir los niveles de ROS y de marcadores inflamatorios.

BIBLIOGRAFÍA

De más reciente a menos reciente:

¹John R. Petrie, Tomasz J. Guzik, Rhian M. Touyz. Diabetes, Hypertension and Cardiovascular Disease: Clinical Insights and Vascular Mechanisms. *Canadian Journal of Cardiology* 34 2018: 575-584.

²Annayya R. Aroor, Guanghong Jia and James R. Sowers. Cellular mechanisms underlying obesity-induced arterial stiffness. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 314: R387–R398, 2018.

³Li M, Qian M and Xu J. Vascular Endothelial Regulation of Obesity-Associated Insulin Resistance. *Front. Cardiovasc. Med.* 2017 Aug 9; 4:51.

⁴Arijit Ghosh, Lei Gao, Abhimanyu Thakur, Parco M. Siu¹ and Christopher W. K. Lai. Role of free fatty acids in endothelial dysfunction. *Journal of Biomedical Science* (2017) 24:50.

⁵Arun Kumar E. Achari and Sushil K. Jain. Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction. *Int J Mol Sci.* 2017 Jun 21; 18(6).

⁶Engin A. Endothelial Dysfunction in Obesity. *Adv Exp Med Biol.* 2017; 960:345-379.

⁷Yu Mi Kang, Francis Kim, Woo Je Lee. Role of NO/VASP Signaling Pathway against Obesity-Related Inflammation and Insulin Resistance. *Diabetes Metab J.* 2017; 41:89-95

⁸Hyeong Kyu Park, Mi Kyung Kwak, Hye Jeong Kim and Rexford S. Ahima. Linking resistin, inflammation, and cardiometabolic diseases. *Korean J Intern Med.* 2017; 32:239-247

⁹Akira Kurozumi, Yosuke Okada, Tadashi Arao and Yoshiya Tanaka. Excess Visceral Adipose Tissue Worsens the Vascular Endothelial Function in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Intern Med* 55: 3091-3095, 2016.

¹⁰Abeer M. Mahmoud, Mary R. Szczurek, Brian K. Blackburn, Jacob T. Mey, Zhenlong Chen, Austin T. Robinson, Jing-Tan Bian, Terry G. Unterman, Richard D. Minshall, Michael D. Brown, John P. Kirwan, Shane A. Phillips and Jacob M. Haus. Hyperinsulinemia augments endothelin-1 protein expression and impairs vasodilation of human skeletal muscle arterioles. *Physiol Rep*, 4 (16), 2016, e12895.

¹¹Guanghong Jia, William Durante and James R. Sowers. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factors: A Potential Therapeutic Target for Vascular Dysfunction in Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes* 2016; 65:2118–2120.

¹²R.J.King-P.J.Grant. Diabetes and cardiovascular disease: pathophysiology of a life-threatening epidemic. *Herz* 2016;41:184–192.

¹³Tushar P. Patel, Komal Rawal, Ashim K. Bagchi, Gauri Akolkar, Nathalia Bernardes, Danielle da Silva Dias, Sarita Gupta, Pawan K. Singal. Insulin resistance: an additional risk factor in the pathogenesis of cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Heart Fail Rev* (2016) 21:11–23.

¹⁴Lina Zhao, Zhuo Fu, Jing Wu, Kevin W. Aylor, Eugene J. Barrett, Wenhong Cao and Zhenqi Liu. Inflammation-induced microvascular insulin resistance is an early event in diet-induced obesity. *Clinical Science* (2015) 129, 1025–1036.

¹⁵Guilherme Ardenghi Balsan, José Luiz da Costa Vieira, Aline Marcadenti de Oliveira, Vera Lúcia Portal. Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance. *Rev Assoc Med Bras* (1992). 2015 Jan-Feb; 61(1):72-80.

¹⁶Mercedes Muñoz, Ana Sánchez, María Pilar Martínez, Sara Benedito, Maria-Elvira López-Oliva, Albino García-Sacristán, Medardo Hernández, Dolores Prieto. COX-2 is involved in vascular oxidative stress and endothelial dysfunction of renal interlobar arteries from obese Zucker rats. *Free Radical Biology and Medicine*. 2015 Jul; 84:77-90.

¹⁷Francesco Paneni, Sarah Costantino, Francesco Cosentino. Role of oxidative stress in endothelial insulin resistance. *World Journal of Diabetes* 2015 March 15; 6(2): 326-332.

¹⁸Guillaume Walther, Philippe Obert, Frédéric Dutheil, Robert Chapier, Bruno Lesourd, Geraldine Naughton, Daniel Courteix, Agnès Vinet. Metabolic Syndrome Individuals With and Without Type 2 Diabetes Mellitus Present Generalized Vascular Dysfunction. Cross-Sectional Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015; 35:1022-1029.

¹⁹Patricio López-Jaramillo, Diego Gómez-Arbeláez, Jose López-López, Cristina López-López, Javier Martínez-Ortega, Andrea Gómez-Rodríguez and Stefany Triana-Cubillos. The role of leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes. *Horm Mol Biol Clin Invest* 2014; 18(1): 37–45.

²⁰Nora Klöting and Matthias Blüher. Adipocyte dysfunction, inflammation and metabolic syndrome. *Rev Endocr Metab Disord* (2014) 15:277–287.

²¹A. Sánchez, P. Martínez, M. Muñoz, S. Benedito, A. García-Sacristán, M. Hernández and D. Prieto. Endothelin-1 contributes to endothelial dysfunction and enhanced vasoconstriction through augmented superoxide production in penile arteries from insulin-resistant obese rats: role of ET_A and ET_B receptors. *British Journal of Pharmacology* (2014) 171 5682–5695.

²²Prieto D, Contreras C, Sánchez A. Endothelial Dysfunction, Obesity and Insulin Resistance. *Current Vascular Pharmacology*, 2014 (12): 412-426.

²³Camila Manrique, Guido Lastra and James R. Sowers. New insights into insulin action and resistance in the vasculature. *Ann NY Acad Sci*. 2014 April; 1311(1): 138–150.

²⁴Umberto Campia, Manfredi Tesouro, Nicola Di Daniele, Carmine Cardillo. The vascular endothelin system in obesity and type 2 diabetes: Pathophysiology and therapeutic implications. *Life Sciences* 118 (2014) 149-155.

²⁵Noboru Toda and Tomio Okamura. Obesity Impairs Vasodilatation and Blood Flow Increase Mediated by Endothelial Nitric Oxide: An Overview. *The Journal of Clinical Pharmacology* 53(12) 1228–1239.

²⁶Theodora Szasz, Gisele Facholi Bomfim and R Clinton Webb. The influence of perivascular adipose tissue on vascular homeostasis. *Vascular Health and Risk Management* 2013;9 105–116.

²⁷Kieren J. Mather, Helmut O. Steinberg and Alain D. Baron. Insulin resistance in the vasculature. *The Journal of Clinical Investigation* 2013; 123(3):1003–1004.

²⁸Ranganath Muniyappa and James R. Sowers. Role of Insulin Resistance in Endothelial Dysfunction. *Rev Endocr Metab Disord*. 2013 March; 14(1): 5–12.

²⁹Brian E. Sansbury, Timothy D. Cummins, Yunan Tang, Jason Hellmann, Candice R. Holden, Matthew A. Harbeson, Yang Chen, Rakesh P. Patel, Matthew Spite, Aruni Bhatnagar and Bradford G. Hill. Overexpression of Endothelial Nitric Oxide Synthase Prevents Diet-Induced Obesity and Regulates Adipocyte Phenotype. *Circ Res*. 2012 October 12; 111(9): 1176–1189.

³⁰Dimitris Tousoulis, Anna-Maria Kampoli, Costas Tentolouris Nikolaos Papageorgiou and Christodoulos Stefanadis. The Role of Nitric Oxide on Endothelial Function. *Current Vascular Pharmacology* 2012, 10, 4-18.

³¹Muhiddin A.Ozkor and Arshed A. Quyyumi. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor and Vascular Function. *Cardiology Research and Practice*. Volume 2011, Article ID 156146, 12 pages.

³²Christian Rask-Madsen and George L King. Mechanisms of Disease: endothelial dysfunction in insulin resistance and diabetes.

³³Jeong-a Kim, Monica Montagnani, Kwang Kon Koh and Michael J. Quon. Reciprocal Relationships Between Insulin Resistance and Endothelial Dysfunction: Molecular and Pathophysiological Mechanisms. *Circulation* 2006; 113:1888-1904.

³⁴A.A. Lteif, K. Han and K.J. Mather. Obesity, Insulin Resistance, and the Metabolic Syndrome Determinants of Endothelial Dysfunction in Whites and Blacks. *Circulation* 2005; 112:32-38.

³⁵Stephen E. Borst. The Role of TNF- α in Insulin Resistance. *Endocrine*, vol. 23, no. 2-3, 177-182.

³⁶Paresh Dandona, Ahmad Aljada and Arindam Bandyopadhyay. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends in Immunology*, Vol.25 No.1 January 2004.

³⁷Koeppen, B. M.; Stanton, B. A., (2009), *Berne y Levy Fisiología*, Barcelona, España, Elsevier España, S.L.

³⁸Kumar, S.; O'Rahilly, S., (2005), *Insulin Resistance: Insulin Action and its Disturbances in Disease*, West Sussex, England, Wiley Editorial.