

# TRABAJO DE FIN DE GRADO



FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

## MECANISMOS MOLECULARES ASOCIADOS A LAS ALTERACIONES DE LA FUNCIONALIDAD DEL TEJIDO ADIPOSO MARRÓN DURANTE LA OBESIDAD

Alumno: Víctor Martínez Toledo

Tutora: Ángela María Martínez Valverde

Convocatoria: Febrero 2020

# Índice

1. Resumen .....	2
2. Objetivo .....	2
3. Introducción .....	3
a. Etiopatología de la obesidad .....	3
b. Adipocitos blancos, pardos y beige .....	3
c. Mecanismos implicados en el desarrollo de la obesidad y comorbilidades asociadas .....	4
i. Hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos .....	5
ii. Inflamación y fibrosis del tejido adiposo .....	5
d. Tejido adiposo marrón: origen y características .....	7
4. Material y métodos .....	8
5. Resultados y discusión .....	9
a. Tejido adiposo beige vs tejido adiposo marrón .....	9
b. Origen de los adipocitos beige .....	9
c. Precursores beige .....	10
d. Factores del pardeamiento .....	11
i. Exposición al frío .....	11
ii. PPAR $\gamma$ .....	11
iii. Ejercicio físico .....	12
iv. Musclina .....	12
v. Irisina .....	13
vi. GABA y BAIBA .....	13
e. Relevancia clínica .....	15
6. Conclusiones .....	16
7. Bibliografía .....	18

## **1. RESUMEN**

La obesidad es una enfermedad metabólica con una alta prevalencia, considerada como una pandemia por la Organización Mundial de la Salud. Esta enfermedad es provocada por un desequilibrio entre la energía proveniente de la dieta y la energía gastada, lo cual produce una acumulación exagerada de tejido adiposo, el cual se vuelve disfuncional y termina desencadenando numerosas comorbilidades.

En los últimos tiempos se ha puesto el foco del tratamiento de la obesidad en el tejido adiposo marrón y aún más recientemente en el tejido adiposo beige, el cual es resultante de un proceso de pardeamiento del tejido adiposo blanco.

En esta revisión se abordarán las características distintivas de los 3 tipos de tejido adiposo, se profundizará en el origen, precursores y factores inductores del tejido adiposo beige y si su inducción y desarrollo resultan o no beneficiosos para el tratamiento de una enfermedad tan compleja como la obesidad.

## **ABSTRACT**

Obesity is a metabolic disease with a high prevalence, considered as a pandemic by the World Health Organization. This disease is caused by an imbalance between the energy intake by the diet and energy expenditure, which produces an exaggerated accumulation of adipose tissue, that becomes dysfunctional and ends up triggering numerous comorbidities.

Recently, the treatment of obesity has been focused on brown adipose tissue and particularly on beige adipose tissue, which is the result of a process of white fat browning.

In this review, the distinctive characteristics of the 3 types of adipose tissue will be achieved, the origin, precursors and inducing factors of beige adipose tissue will be deepened and whether its induction and development are beneficial or not for the treatment of a complex disease as obesity .

## **2. OBJETIVO:**

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión de la bibliografía existente sobre el origen y los mecanismos de desarrollo del tejido adiposo beige y sobretodo de su posible relevancia clínica en el tratamiento de la obesidad.

### **3. INTRODUCCIÓN**

#### **a. ETIOPATOLOGÍA DE LA OBESIDAD**

La obesidad es una enfermedad crónica de origen multifactorial caracterizada por un exceso de adiposidad subcutánea, visceral e intramuscular. Se trata de una metabolopatía causada por un exceso calórico crónico que se relaciona con el desarrollo de resistencia a la insulina, enfermedades cardiovasculares, apnea del sueño, artritis y diversos tipos de cáncer, entre otras patologías.

La herramienta clínica más empleada para su estratificación es la medida del Índice de Masa Corporal, que se define como:  $IMC = \frac{Masa\ corporal\ (kg)}{Talla^2(m^2)}$ . Según los puntos de corte de la Organización Mundial de la Salud, el normopeso se define como un IMC entre 18,5-24,9 kg/m<sup>2</sup>, el sobrepeso como un IMC entre 25,0 y 29,9 kg/m<sup>2</sup> y la obesidad como un IMC  $\geq 30,0$  kg/m<sup>2</sup>. La ventaja de esta herramienta es la simpleza de su medida y el principal inconveniente es que no es del todo predictiva.

Otras herramientas como la medida del ratio cintura/cadera o medidas indirectas del porcentaje de grasa corporal a través de plicometría o bioimpedancia podrían resultar más útiles en el control y tratamiento individualizado de los pacientes. En función del porcentaje de grasa corporal, los puntos de corte de sobrepeso se definen como  $\geq 20,1\%$  para hombres y  $\geq 30,1\%$  para mujeres, mientras que la obesidad se define como un porcentaje de grasa corporal  $\geq 25,1\%$  para hombres y  $\geq 35,1\%$  para mujeres. Este dimorfismo sexual se debe a la mayor acumulación de grasa de las mujeres en las glándulas mamarias y región glúteo-femoral.

#### **b. ADIPOCITOS BLANCOS, PARDOS Y BEIGE**

El tejido adiposo constituye un órgano endocrino muy dinámico capaz de secretar factores bioactivos conocidos como adipoquinas que regulan una gran variedad de funciones biológicas. Tradicionalmente se han distinguido dos tipos de tejido adiposo en función de sus características morfológicas y funcionales: el tejido adiposo blanco (TAB) y marrón/pardo (TAM). El TAB se compone de adipocitos que se mantienen unidos por un tejido conectivo laxo que está adecuadamente vascularizado e inervado. Los adipocitos blancos son células redondeadas grandes (25-200  $\mu$ m) caracterizadas por una gran gota lipídica unilocular rodeada por una fina capa de citoplasma, pocas mitocondrias y un núcleo plano y desplazado a la periferia (Figura 1).

Las principales funciones del TAB son la acumulación de energía en forma de triacilglicerol, el aislamiento térmico y la secreción de adipoquinas que regulan diversos procesos biológicos de forma autocrina, paracrina y endocrina.

Los adipocitos de la grasa parda o TAM son células más pequeñas (15-60  $\mu$ m) y presentan una forma poligonal, gotas lipídicas multiloculares, múltiples mitocondrias y un núcleo central. La termogénesis adaptativa mediante la activación de la proteína desacoplante UCP1 constituye la principal función biológica de la grasa parda, que

también puede actuar como depósito de triacilgliceroles y secretar adipoquinas, aunque en menor medida que el TAB (Figura 1).

En 2010 se describió la existencia de un tercer tipo de adipocitos denominados adipocitos beige [1] con morfología de adipocitos pardos en el interior del TAB (Figura 1). La adquisición de este fenotipo similar a los adipocitos pardos (presencia de gotas lipídicas multiloculares y un gran número de mitocondrias) se produce tras la exposición al frío, estimulación de receptores  $\beta$ -adrenérgicos o por el tratamiento con agonistas del receptor gamma activado por el factor proliferador de peroxisomas (PPAR $\gamma$ ), en un proceso denominado pardeamiento del tejido adiposo ("*fat browning*" en inglés). Tras la inducción, los adipocitos beige expresan genes termogénicos clásicos (*UCP1*, *PPARGC1A*, *DIO2* y *ADRB3*), pero también expresan marcadores genéticos diferenciales como *CD137*, *TMEM26*, *TBX1* o *SHOX2*.

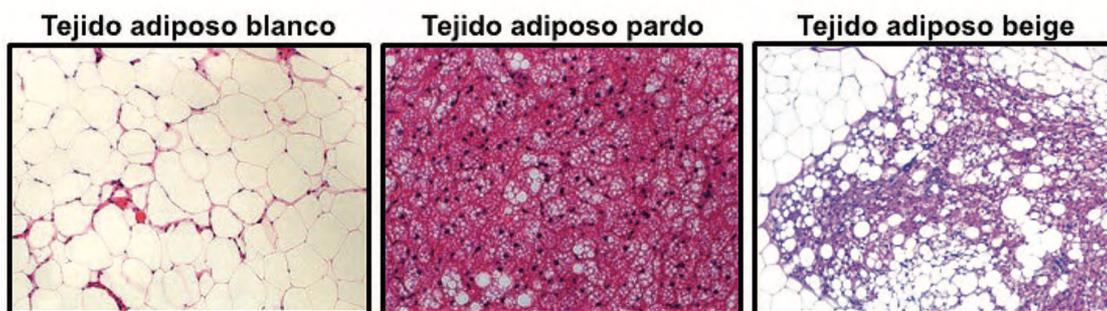


Figura 1. Tejido adiposo blanco, pardo y beige. Secciones histológicas representativas de tejidos de roedores. Tinción hema- toxilina-eosina, aumento 100X [1].

### c. MECANISMOS IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE OBESIDAD Y COMORBILIDADES ASOCIADAS

La energía es almacenada en los adipocitos en forma de triglicéridos. La principal fuente de triglicéridos procede de los quilomicrones y las proteínas de muy baja densidad (VLDL) circulantes. En los humanos, el almacenamiento de los ácidos grasos en el tejido adiposo depende prácticamente de la liberación de los mismos desde las lipoproteínas por acción de la lipoproteína lipasa (LPL). Tal es el protagonismo de esta enzima en el metabolismo lipídico que se describe una acción proaterogénica de la LPL expresada por los macrófagos, y una acción antiaterogénica, expresada en el tejido adiposo y músculo esquelético. Por tanto, esta enzima estaría implicada en las alteraciones lipídicas de la obesidad. Su actividad aumenta en el período postprandial y se inhibe en el ayuno y está incrementada en el tejido adiposo tanto de humanos como de animales de experimentación obesos. Sin embargo, la capacidad de respuesta de la LPL a la insulina y a la alimentación en pacientes obesos está disminuida por presentar resistencia a la insulina.

Otro de los procesos metabólicos que se producen en el tejido adiposo es la lipólisis, donde los triglicéridos almacenados son hidrolizados a ácidos grasos y glicerol. El paso limitante de la lipólisis está controlado por la lipasa sensible a hormonas (HSL). Dicha enzima presenta una regulación muy fina. Así, la activación de los receptores  $\beta$ -

adrenérgicos produce un aumento de los niveles intracelulares de AMPc que activan a la proteína quinasa activada por AMPc (PKA) y ésta a su vez estimula la fosforilación activadora (P-Ser 552) de la HSL. Sin embargo, la activación de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, favorece la reducción de los niveles intracelulares de AMPc, produciendo una menor activación de PKA y por tanto, de HSL. Así, las catecolaminas tienen un efecto dual sobre la lipólisis, y su efecto neto depende del balance entre los receptores  $\alpha_2$  y  $\beta$  adrenérgicos.

Otra de las hormonas inhibitoras de la lipólisis, es la insulina, que induce la activación de la fosfodiesterasa III, que a su vez produce la inactivación de AMPc mediante su conversión a AMP.

La ganancia ponderal durante el desarrollo de obesidad se asocia a diversos cambios biológicos y morfológicos en el tejido adiposo, tales como la hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos, inflamación y fibrosis, así como a una secreción alterada de adipoquinas. El descubrimiento relativamente reciente de depósitos grasos pardos y beige en humanos ha abierto un nuevo campo de investigación centrado en estos depósitos grasos como posibles dianas terapéuticas anti-obesidad.

#### **i. Hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos**

El crecimiento del TAB es un proceso estrictamente regulado, ya que tanto su exceso (sobrepeso u obesidad), como su ausencia total o parcial (lipodistrofias congénitas o adquiridas), se asocian a graves trastornos metabólicos. Los precursores de los adipocitos se originan en el período prenatal. Durante la infancia y adolescencia, el número de adipocitos aumenta, existiendo dos picos de crecimiento del TAB por hiperplasia: el primero, tras el nacimiento, y el segundo en la pre-pubertad entre los 9 y 13 años. En la adolescencia, la tasa de proliferación de los adipocitos disminuye y se mantiene relativamente constante en el período adulto, etapa en la que el TAB crece por un aumento del tamaño de los adipocitos.

¿Es la obesidad, por tanto, el resultado de una hiperplasia o una hipertrofia de los adipocitos? Los individuos con sobrepeso inicialmente presentan una hipertrofia de los adipocitos, sin cambios relevantes en el número de células grasas. Sin embargo, el balance energético positivo perpetuado en el tiempo condiciona un aumento del número y tamaño de los adipocitos, siendo la hiperplasia más evidente a medida que aumenta el grado de severidad de la obesidad. La hipertrofia de los adipocitos en pacientes obesos se asocia a alteraciones en la función mitocondrial, cambios en las proteínas de membrana, mayor grado de apoptosis e inflamación del TAB, que contribuyen al desarrollo de patologías asociadas a la obesidad. Estas alteraciones asociadas a la hipertrofia de los adipocitos son aún más evidentes en individuos con obesidad visceral.

#### **ii. Inflamación y fibrosis del tejido adiposo**

La obesidad es reconocida a día de hoy como un estado de inflamación crónica de bajo grado. En este sentido, la expansión patológica del TAB en la obesidad se acompaña de un aumento en el reclutamiento de macrófagos y otras células del sistema inmune, una mayor secreción de adipoquinas y citoquinas proinflamatorias, así como alteraciones en los componentes de la matriz extracelular, que agravan la inflamación sistémica de los

individuos obesos.

En condiciones fisiológicas, los eosinófilos y linfocitos Th2 y Treg CD4+ residentes en el TAB suprimen la inflamación mediante la secreción de citoquinas anti-inflamatorias, tales como IL-4, IL-10 o IL-13, las cuales activan el fenotipo anti-inflamatorio de los macrófagos M2. Sin embargo, el exceso de adiposidad favorece la infiltración de macrófagos, neutrófilos, células espumosas, linfocitos T y B, mastocitos y células dendríticas en el TAB. Además, un rasgo característico de la inflamación asociada a la obesidad es la polarización de macrófagos residentes en el TAB en estado M2 hacia un perfil proinflamatorio M1, particularmente en la grasa visceral. Otra característica histológica de la inflamación del TAB es el aumento de apoptosis de los adipocitos, que son rodeados por macrófagos M1 de intensa actividad fagocítica, formando unas estructuras en forma de corona (“crown-like structures” en inglés). Los propios adipocitos favorecen este microambiente inflamatorio mediante la secreción de adipoquinas proinflamatorias, quimioquinas y alarminas generándose así un bucle de retroalimentación entre los macrófagos y los adipocitos (Figura 2).

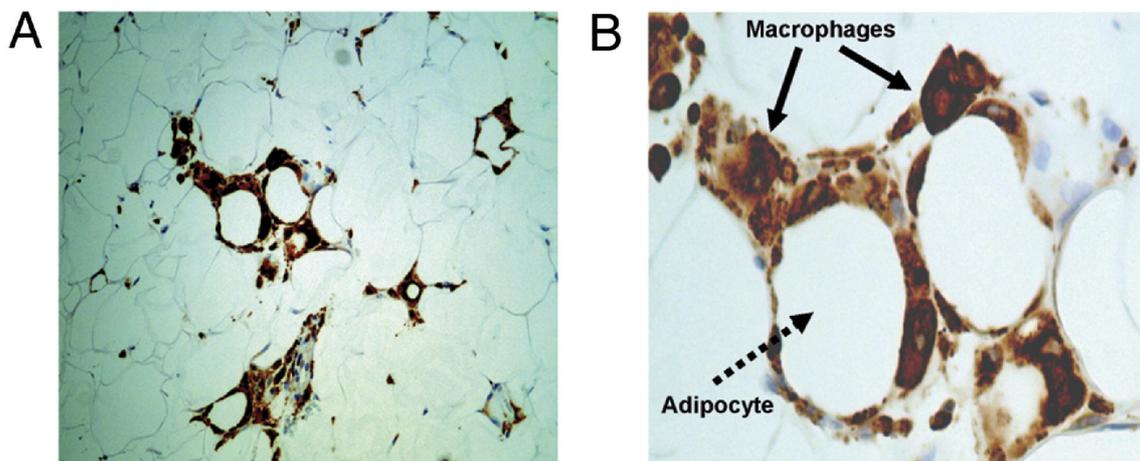


Figura 2. Infiltración de macrófagos M1 en el TAB (“crown-like structures”) [2].

Los sujetos obesos presentan una menor producción de elastina y un aumento en la síntesis de colágeno tipo I, III, V y VI, fibronectina y laminina en el TAB, que favorecen la aparición de zonas fibróticas, siendo más abundantes en la grasa visceral que en la subcutánea. Esta alteración en el remodelado de la matriz extracelular disminuye la flexibilidad del TAB, contribuyendo a su disfunción metabólica e inflamación. Asimismo, la fibrosis limita su capacidad de expansión, hecho que favorece la acumulación ectópica de lípidos en otros tejidos periféricos, tales como hígado, páncreas músculo esquelético o corazón, generando un fenómeno llamado lipotoxicidad. En este sentido, la obesidad se asocia a una mayor lipólisis, especialmente en el depósito grasa visceral. La sobrecarga hepática con un exceso de ácidos grasos inhibe la degradación de insulina y apolipoproteína B y aumenta la gluconeogénesis hepática y el metabolismo de lipoproteínas en los hepatocitos. Por tanto, la fibrosis del TAB contribuye de forma indirecta al desarrollo de hiperinsulinemia, hiperglucemia y dislipemia asociada a la obesidad visceral. Además, la rigidez del TAB se asocia a un aumento de marcadores de daño hepatocelular, así como de un mayor desarrollo de esteatosis y fibrosis hepática.

#### **d. TEJIDO ADIPOSO MARRÓN: ORIGEN Y CARACTERÍSTICAS**

Originalmente, se pensó que el TAM estaba presente en los seres humanos sólo durante el período perinatal. Sin embargo, datos recientes han demostrado que los adultos conservan algunos depósitos metabólicamente activos de TAM que responden al frío y a la activación simpática del sistema nervioso. Dichos depósitos son UCP1 positivos y son detectados por tomografía por emisión de positrones (PET). Actualmente, en humanos, el TAM se ha descrito que está localizado en depósitos de la región cervical, supraclavicular, paravertebral, mediastinal, para-aórtica y suprarrenal [3].

En humanos, elevados niveles de actividad de los adipocitos marrones o beige se asocian a un menor nivel de grasa corporal, sugiriendo que podrían tener un papel importante en el metabolismo. Al igual que ocurre con la exposición al frío, el TAM o la actividad de del tejido adiposo beige pueden verse incrementados por la acción de agonistas  $\beta$ 3-adrenérgicos. La evidencia genética también sugiere que el TAM influye en el metabolismo energético y en la susceptibilidad a la obesidad. Por ejemplo, variantes en el locus FTO, que están fuertemente asociadas a la obesidad, reprimen las vías termogénicas en los adipocitos marrones.

El TAM procede de células precursoras que comparten el mismo linaje genético que las células del tejido muscular esquelético y son Myf5 positivas. Al contrario que las células musculares, los progenitores del TAM expresan los marcadores PRDM16 y BMP7 durante su desarrollo, lo determina su conversión en adipocitos marrones maduros [4].

Los adipocitos marrones también están marcados por Myf5 y Pax7 de forma previa al desarrollo, que codifican dos factores de transcripción que marcan las células precursoras miogénicas y desempeñan funciones críticas en la miogénesis esquelética. La expresión temprana de Pax7 marca las células preferentemente destinadas a la grasa marrón, mientras que la expresión tardía de Pax7 marca las células que están predominantemente restringidas al linaje del músculo esquelético. Curiosamente, la señalización de Wnt en la población de En1 multipotente (posterior) impulsa la especificación dérmica a expensas del compromiso de las células musculares y adipocitos marrones, lo que sugiere que la señalización de Wnt regula la divergencia de las células dérmicas entre las células que tienen potencial miogénico y adipogénico marrón. Los estudios de expresión génica mostraron que las células precursoras de grasa marrón expresan muchos genes específicos del músculo esquelético. Además, el proteoma mitocondrial de las células de grasa marrón es más similar al de las células musculares que a los adipocitos blancos. Finalmente, se ha demostrado que muchos factores, incluidos PRDM16, EHMT1, EWS-FLI1, ZFP516, miR133 y miR-193b-365, regulan una decisión del destino celular entre el músculo y las células de grasa marrón (Figura 3) [5].

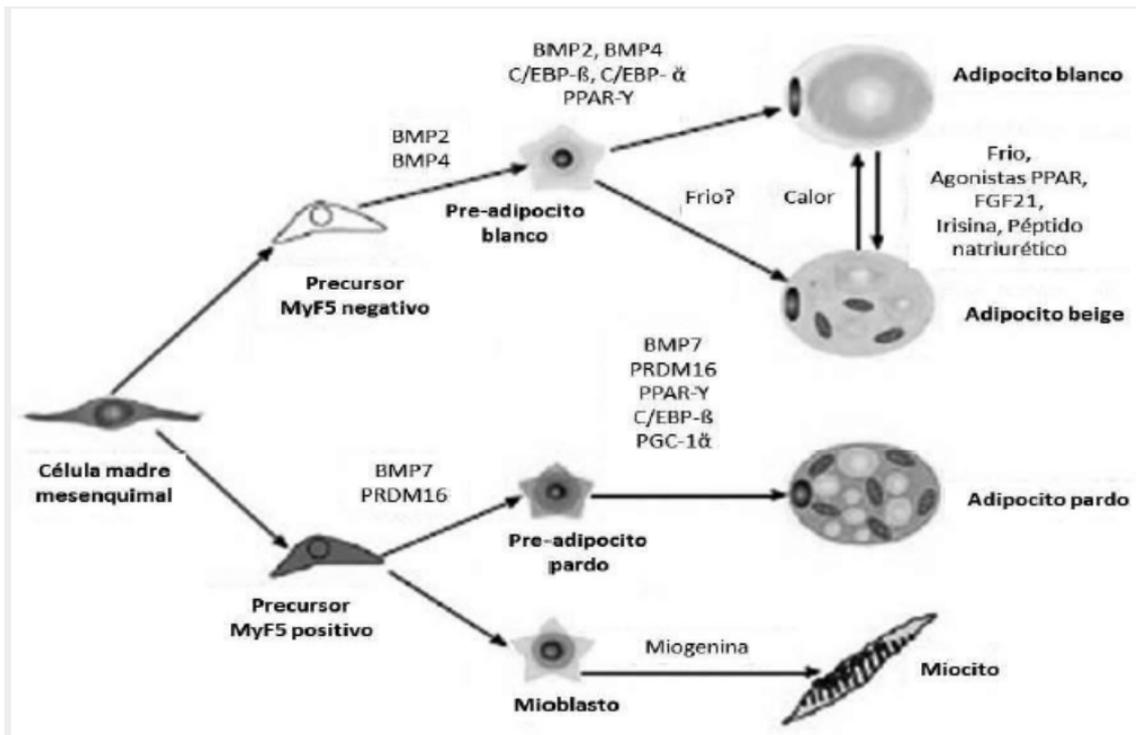


Figura 3. Esquema de diferenciación de distintas células adiposas y miocitos, a partir de células madre, y las principales moléculas implicadas [6].

#### 4. MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo la elaboración del trabajo se realizó una búsqueda de artículos en una de las principales bases de datos bibliográficas en Internet, concretamente en PubMed/Sciencedirect. Para acotar la búsqueda se utilizaron descriptores MESH como: *browning*, *beiging*, *obesity*, *review*. También se ha llevado a cabo búsquedas con los mismos términos en otras bases de datos como: La Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM). Por último, la metodología empleada para citar la bibliografía ha sido *Vancouver*.

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **a. TEJIDO ADIPOSO BEIGE VERSUS MARRÓN**

Los adipocitos marrones y beige comparten muchas características morfológicas y bioquímicas:

- Contienen multitud de gotículas de lípidos tal como se ha indicado se denominan multiloculares en comparación con los adipocitos blancos uniloculares.
- Contienen mitocondrias densamente empaquetadas
- Expresan genes termogénicos clave (UCP1, Cidea, Ppara $\alpha$ , Pgc1 $\alpha$ ) y tienen la capacidad termogénica en respuesta a varios estímulos (como el frío).

Sin embargo, a pesar de sus similitudes, los adipocitos marrones y beige también tienen características fenotípicas y funcionales distintivas:

- Obviamente, en condiciones de no estimulación (basales), los adipocitos marrones tienen abundantes mitocondrias y expresan niveles relativamente más altos de UCP1 y otros componentes termogénicos, mientras que los adipocitos beige solo expresan los marcadores termogénicos tras la estimulación y en estas condiciones lo hacen en niveles comparables a los adipocitos marrones. Por ejemplo, los precursores adipogénicos aislados del TAM inducen la expresión de UCP1 durante su conversión a adipocitos en cultivo. Los precursores selectivos de grasa beige o las células precursoras adipogénicas de TAB no activan las vías de señalización de la termogénesis en cultivo a menos que se traten con inductores adicionales, como tiazolidindionas (PPAR $\gamma$ ) o agonistas  $\beta$ -adrenérgicos. Por lo tanto, los adipocitos beige tienen un fenotipo flexible y pueden llevar a cabo el almacenamiento o la disipación de energía dependiendo de las circunstancias ambientales o fisiológicas [5].
- Además, los adipocitos beige expresan de manera única un mecanismo termogénico adicional separado de la función de UCP1, que afecta la homeostasis de la energía sistémica. Tanto en ratones como en humanos pueden ejecutar un ciclo de creatina que disipa la energía y produce calor en respuesta al frío o la activación  $\beta$ -adrenérgica. El bloqueo de este ciclo reduce la capacidad termogénica del TAB inguinal (y posiblemente de otros depósitos de TAB) y conduce a una disminución del consumo de oxígeno en animales. La existencia de esta vía independiente de UCP1 para la termogénesis en los adipocitos beige probablemente también explica, al menos en parte, la capacidad de los animales con deficiencia de UCP1 para sobrevivir en el frío a través de la aclimatación gradual.

### **b. ORIGEN DE LOS ADIPOCITOS BEIGE**

Los adipocitos multiloculares beige que expresan UCP1 emergen en depósitos de TAB en respuesta al frío y otros estímulos citados. La exposición prolongada al frío conduce a la aparición de adipocitos UCP1+ en la mayoría de los depósitos de TAB en ratones. Sin

embargo, ciertos depósitos, como el TAB inguinal (un depósito subcutáneo importante en roedores) son altamente susceptibles al pardeamiento incluso con estimulación leve, mientras que otros depósitos, como el TAB epididimal (perigonadal) son bastante resistentes al pardeamiento. Por esta razón, la mayoría de los estudios que examinan en ratones los mecanismos del desarrollo y la función de la grasa beige se han centrado en el depósito inguinal.

En humanos, ha habido un importante debate sobre si los depósitos de TAM identificados son análogos al TAM clásico o la grasa beige de roedores. Dos grupos reportaron que el depósito de TAM más grande en adultos, ubicado en la región supraclavicular, tiene un perfil molecular más similar al de la grasa beige que a la grasa marrón de roedores [7] [8]. En contraste, Jespersen et al. [9] descubrieron que el tejido adiposo supraclavicular expresa niveles enriquecidos de genes selectivos de grasa beige y marrón en relación con el TAB, lo que sugiere la presencia de ambos tipos de células. Wu et al [8] compararon los niveles de genes marcadores en biopsias de TAM positivas en el análisis FDG-PET con las de regiones adyacentes de TAB subcutáneo de los mismos individuos sanos. Sus resultados sugieren que gran parte del TAM humano adulto identificado por FDG-PET es probablemente grasa beige. En apoyo a estos resultados, el TAM humano tiene una morfología similar a la grasa beige de ratones en el sentido de que contiene grupos (islas) de células que expresan UCP1 multilocular intercaladas entre adipocitos uniloculares grandes de color blanco.

Los depósitos tradicionales de TAB en humanos, incluidos el depósito subcutáneo abdominal y el omental, albergan células madre mesenquimales, llamadas células madre derivadas de tejido adiposo (ADSC), que tienen la capacidad de activar un programa de diferenciación similar a la grasa marrón. Estos adipocitos derivados de ADSC son completamente competentes para activar la termogénesis dependiente de UCP1 cuando se diferencian en cultivo. Sin embargo, el grado en que los adipocitos beige están presentes o pueden ser inducidos a desarrollarse dentro de los depósitos de TAB humanos no está claro y plantea una pregunta clave para estudios futuros [5].

### **c. PRECURSORES BEIGE**

Las poblaciones heterogéneas de precursores adipogénicos aislados de TAB activan un programa de diferenciación similar a la grasa marrón en respuesta a varios inductores ex vivo. Por ejemplo, Schulz et al. [10] mostraron que una subpoblación de la fracción del estroma vascular (Sca1+ CD45- Mac1-) aislada de la grasa blanca y del músculo puede diferenciarse en adipocitos que expresan UCP1 después de la exposición al factor BMP7. Las tiazolidindionas, agonistas sintéticos de PPAR $\gamma$ , también inducen un programa similar a la grasa marrón en células precursoras adipogénicas derivadas de TAB de ratones y humanos. Sin embargo, estos estudios no abordaron si hay poblaciones separadas de células precursoras adipogénicas ya predeterminadas a convertirse en adipocitos blancos o en adipocitos beige en el TAB.

Cabe destacar que CD137 y TMEM26 se identificaron como nuevos marcadores de superficie específicos de adipocitos beige. En estudios separados, Ussar et al.[11] identificaron PAT2 y P2RX5 como marcadores de la superficie celular de células de grasa marrón y beige de ratón y humano. Destacar que los anticuerpos que reaccionan con las

regiones extracelulares de una o más de estas proteínas permitirán a los investigadores identificar y purificar las células grasas marrones y beige de diferentes depósitos y en diversas condiciones.

El marcador de preadipocito marrón Ebf2 se expresa en un subconjunto de células precursoras adipogénicas del TAB inguinal de ratón. La exposición al frío aumenta la proporción de células precursoras Ebf2+ en la fracción del estroma vascular. Aunque tanto las células precursoras Ebf2+ como Ebf2- experimentan diferenciación a adipocitos, solo las células Ebf2+ activan un programa termogénico en respuesta a la rosiglitazona (agonista PPAR $\gamma$ ), lo que sugiere que la expresión de Ebf2 identifica los precursores específicos de grasa beige en el TAB. Sin embargo, queda por determinar si las células Ebf2+ también pueden dar lugar a adipocitos blancos in vivo bajo ciertas condiciones, como el envejecimiento y la alimentación rica en grasas. Es posible que la mayoría de los precursores adipogénicos en el TAB inguinal sean Ebf2+ y tengan un destino beige intrínseco. La expresión irregular de UCP1 y otras características termogénicas dependería tanto de factores microambientales, como de la proximidad de las células a las fibras nerviosas. Es importante señalar que el TAB deficiente en Ebf2 y las células precursoras aisladas tienen una capacidad drásticamente deteriorada para sufrir pardeamiento, lo que demuestra que Ebf2, además de marcar las células grasas beige, desempeña una función crítica su desarrollo [5].

#### **d. FACTORES DEL PARDEAMIENTO O “BEIGING”/ “BROWNING” DEL TAB**

##### **i. Exposición al frío**

El frío es detectado por los termorreceptores, lo que conduce a una activación del sistema nervioso simpático (SNS) y una liberación de noradrenalina (NA) de los terminales nerviosos simpáticos que activa el programa termogénico en el TAM a través de la señalización mediada por la PKA y p38 MAPK y conduce a la lipólisis y liberación de ácidos grasos libres para la activación de la UCP1.

Estudios recientes han evidenciado una vía de diferenciación termogénica alternativa de grasa beige. La exposición al frío induce la producción de las citoquinas IL-4/13 por parte de los eosinófilos y esto conduce a la activación de los macrófagos en estado polarizado M2 que inducen la expresión de la tirosina hidroxilasa y la producción de catecolaminas, lo que conduce al pardeamiento del TAB subcutáneo. La cascada de señalización es iniciada por Meteorin-like (Metrnl), que es una hormona regulada por PGC-1 $\alpha$  que se induce con el ejercicio y la exposición al frío y promueve pardeamiento al inducir la liberación de IL-4/13 y la activación de macrófagos M2 que se requiere para adaptaciones a largo plazo al frío [12].

##### **ii. PPAR $\gamma$**

La importancia del receptor nuclear PPAR $\gamma$  es evidente por las implicaciones clínicas de sus agonistas que conducen a una mayor expresión de adiponectina, especialmente en el tratamiento de la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2 (DM2). Además los pacientes con una mutación dominante negativa en el gen que codifica para PPAR $\gamma$  tienen una condición diabética muy grave que indica una correlación entre DM2 y esta molécula de señalización.

PPAR $\gamma$ , además, tiene un papel clave e insustituible en la regulación de la diferenciación

de adipocitos beige en el TAB y la activación del TAM. Ohno et al. (2012) [13] en su estudio mostraron que agonistas de PPAR $\gamma$  como la rosiglitazona se unen y estabilizan la hélice 12 del dominio de unión al ligando (LBD) de PPAR $\gamma$ , lo que conduce a una acumulación prolongada de PRDM16, el cual tiene un papel fundamental en el desarrollo de células beige en el TAB subcutáneo. Por otra parte, los agonistas parciales de PPAR $\gamma$ , los cuales se unen en mayor medida a la hélice 3 y la región de la lámina  $\beta$  de PPAR $\gamma$  (con una influencia mínima en la hélice 12) tienen un efecto de pardeamiento muy débil o nulo (Ohno et al., 2012)[13][4].

En la actualidad, la activación del TAM y la búsqueda de progenitores beige en el TAB humano se ha convertido en un tema de investigación prioritario en el campo de la obesidad. Por tanto, el desarrollo de fármacos agonistas de este receptor que presenten una baja toxicidad podría suponer un avance en las terapias anti-obesidad.

### **iii. Ejercicio**

Diversos estudios han demostrado que el entrenamiento físico puede aumentar la expresión de ciertas proteínas implicadas en el metabolismo como GLUT4 y PGC-1 $\alpha$ . Muchas de estas adaptaciones metabólicas al ejercicio físico por parte del tejido adiposo pueden ocurrir independientemente de cambios significativos en el peso corporal. También se demostró que durante el ejercicio, el SNS se puede activar, lo que promueve la liberación de catecolaminas. Por lo tanto, la estimulación del receptor  $\beta$ -adrenérgico desencadena una estimulación crónica (biogénesis mitocondrial, reclutamiento de adipocitos beige en TAB) y aguda (lipólisis) de la UCP1. El entrenamiento físico produce cambios profundos en el TAB, que incluyen una mayor expresión de genes involucrados en la biogénesis mitocondrial, una mayor actividad mitocondrial, un mayor pardeamiento del TAB subcutáneo y un perfil antiinflamatorio de adipoquinas. Otros estudios mostraron que varias mioquinas liberadas del músculo esquelético durante el ejercicio pueden estar involucradas en el pardeamiento, como la meteorina I, musclina, irisina y ácido  $\beta$ -aminoisobutírico (BAIBA) en roedores y en humanos [4].

### **iv. Musclina**

También conocida como “Factor de ejercicio” u “hormona del ejercicio”, la musclina es un péptido producido por el músculo esquelético en respuesta al ejercicio y se puede encontrar en el torrente sanguíneo. En un estudio realizado por Subbotina et al. (2015) [14], se demostró que la musclina como factor sensible al ejercicio promueve la biogénesis mitocondrial del músculo esquelético y la resistencia a la fatiga. Aunque los estudios sobre musclina son escasos, su papel parece ser muy prometedor. Liu et al. [15] tuvieron algunos hallazgos interesantes, donde informaron que la musclina redujo la absorción de glucosa en el músculo esquelético de rata a través de mecanismos que implican la inhibición de AKT/PKB. Además, proponen que el PPAR $\gamma$  y el receptor nuclear hepático X R alfa (LXR $\alpha$ ) tienen un papel en la reducción de la captación de glucosa en el músculo esquelético expuesto a la musclina [15]. Hallazgos muy similares fueron reportados por Nishizawa et al. (2004) [16]. De todos estos y otros estudios se deduce el posible papel de la musclina en la biogénesis mitocondrial y captación de glucosa por medio de PPAR $\gamma$  indicando que este péptido probablemente tiene efectos en el proceso de pardeamiento. En el futuro, se deben realizar más estudios en el tejido muscular esquelético poniendo el foco especialmente en pacientes con DM2 [4].

## **v. Irisina**

En los últimos años, se ha prestado especial atención a la irisina (un producto de escisión del gen *Fndc5*) como uno de los factores que pueden contribuir al pardeamiento del TAB. La irisina se libera en el torrente sanguíneo durante el ejercicio y promueve el pardeamiento de la grasa estimulando la expresión de la UCP1. Se observa una alta expresión de UCP1 causada por la irisina cuando se inyecta en partículas adenovirales a ratones y, finalmente, este proceso conduce a un aumento en el gasto de energía y una mejora en la obesidad y la homeostasis de la glucosa [17]. Sin embargo, existe una controversia sobre el origen, la regulación y la función de la irisina en humanos. Kurdiova y col. [18] exploró el gen *Fndc5* y la proteína irisina en dos estudios clínicos: un estudio transversal (efectos de la DM2 en hombres sin fármacos) y un estudio de intervención (efectos del ejercicio en individuos sedentarios, con sobrepeso /obesos). Concluyeron lo siguiente: primero, los estudios clínicos complejos combinados con el trabajo de cultivo celular revelaron que el ratio *Fndc5*/irisina disminuyó en individuos con DM2 in vivo, pero no en células musculares in vitro, lo que indica que los factores relacionados con la diabetes regulan la *Fndc5*/irisina in vivo. En segundo lugar, varios efectos de la DM2 como la hiperglucemia, trigliceridemia, adiposidad visceral y mioesteatosis, se asociaron negativamente con el ARNm de *Fndc5* del tejido adiposo y la irisina circulante. Además, imitando el estado diabético *in vitro* mediante el tratamiento de las células musculares con palmitato y glucosa, se disminuyó el ARNm de *Fndc5*. Sin embargo, la irisina se relacionó positivamente con la masa muscular, la fuerza y el metabolismo, señalando factores reguladores comunes y/o su potencial para modificar el fenotipo muscular [18]. También se ha demostrado que la miostatina y la leptina regulan negativamente el pardeamiento de la grasa inducido por la irisina [4].

## **vi. GABA y BAIBA**

Algo muy novedoso en la literatura es el efecto del ácido gamma amino butírico (GABA) en el proceso de pardeamiento. El GABA tiene una larga historia en su uso comercial como suplemento alimenticio. Estudios recientes muestran que el GABA es un potencial antioxidante y puede regular la hiperglucemia, pero desafortunadamente el mecanismo exacto aún no está claro. Al parecer, puede que sea mediante la regulación del estado redox de los aminoácidos libres en músculo y plasma (pFAA). Además, según estos hallazgos, Xie et al. [19] Realizó algunos experimentos con diferentes suplementos de GABA en tres dosis diferentes en ratones con una dieta alta en grasas. Sus hallazgos mostraron que el tratamiento con GABA restauró el estado redox en los trastornos de pFAA inducidos por la dieta en diferentes grados, lo que podría ser responsable de la disminución de los niveles de glucosa en sangre en ayunas. Anteriormente, Braun et al. (2004) [20] mostraron que el GABA mediante la activación de los receptores GABA<sub>B</sub> inhibe la secreción de insulina suprimiendo la exocitosis. La subunidad GABA<sub>B</sub>R1 puede ser una nueva diana para el tratamiento de muchas enfermedades provocadas por el estilo de vida actual, lo cual ha sido demostrado por un estudio de Nakamura et al. [21] En sus experimentos, demostraron que la subunidad GABA<sub>B</sub>R1 se expresa constitutivamente en los adipocitos para regular principalmente la expresión de leptina a nivel transcripcional. Esto explica el posible papel funcional del GABA en los adipocitos [21].

Una de las vías de investigación mas frecuentes en los últimos tiempos son los efectos

del ácido  $\beta$ -aminoisobutírico (BAIBA) en el proceso de pardeamiento y, por lo tanto, su papel en el tratamiento de la obesidad y las enfermedades asociadas. Roberts et al. (2014) [22] mostraron por primera vez que el BAIBA podría ser una nueva mioquina. Este grupo de científicos demostró que el BAIBA está regulado por PGC-1 $\alpha$  y aumenta la expresión de genes específicos de adipocitos marrones. De acuerdo con estos hallazgos, probaron una nueva hipótesis de si el BAIBA induciría una respuesta de pardeamiento en las células madre pluripotentes humanas (PSC) durante su diferenciación en adipocitos blancos maduros. Sus datos indicaron que el BAIBA activa un programa de genes implicados en el pardeamiento y que aumenta la actividad mitocondrial de las PSC humanas diferenciadas en adipocitos blancos. Esto resultó en un mayor grado de pardeamiento y activación de la UCP1 en los adipocitos blancos que expresan la isoforma PPAR $\gamma$ 2 tratados con BAIBA en comparación con las células no tratadas. El análisis de expresión del TAB inguinal reveló un aumento significativo en los genes específicos de adipocitos marrones UCP1 y CIDEA. La expresión de PGC-1 $\alpha$  y citocromo C también aumentó después del tratamiento con BAIBA y se demostró que BAIBA induce una mayor expresión de genes específicos de adipocitos marrón/beige in vivo. Finalmente, podemos decir que BAIBA ha sido identificado como una nueva mioquina molecular que representa el primero en su clase de activadores no adrenérgicos del programa termogénico en el TAB. La identificación del BAIBA como una señal mediada por PGC-1 $\alpha$  y activada por el ejercicio, tiene implicaciones significativas no solo para comprender el ejercicio y su papel protector contra el desarrollo de enfermedades metabólicas, sino también como posibles terapias para la DM2 y el síndrome metabólico [22].

Un paso más cerca del descubrimiento de nuevos hechos sobre el BAIBA y su papel en DM2 proviene de Xiang Shi et al. [23] en su estudio experimental. Demostraron que la administración oral de BAIBA atenúa el estrés, la apoptosis y el trastorno metabólico de glucosa / lípidos en el retículo endoplásmico hepático en ratones con DM2 inducida por una dieta alta en grasas. La señalización de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) contribuye al papel de BAIBA en la atenuación del estrés sobre el RE. Estos hallazgos con respecto a BAIBA proporcionaron nuevos conocimientos sobre el desarrollo de agentes terapéuticos dirigidos a reducir efectivamente el estrés sobre el RE de los hepatocitos y la alteración metabólica de glucosa / lípidos en la DM2 u otros trastornos metabólicos [23]. Anteriormente, Jung et al. (2015) [24] informaron que el BAIBA atenúa la resistencia a la insulina, suprime la inflamación e induce la oxidación de ácidos grasos a través de la vía AMPK-PPAR $\gamma$  en el músculo esquelético.

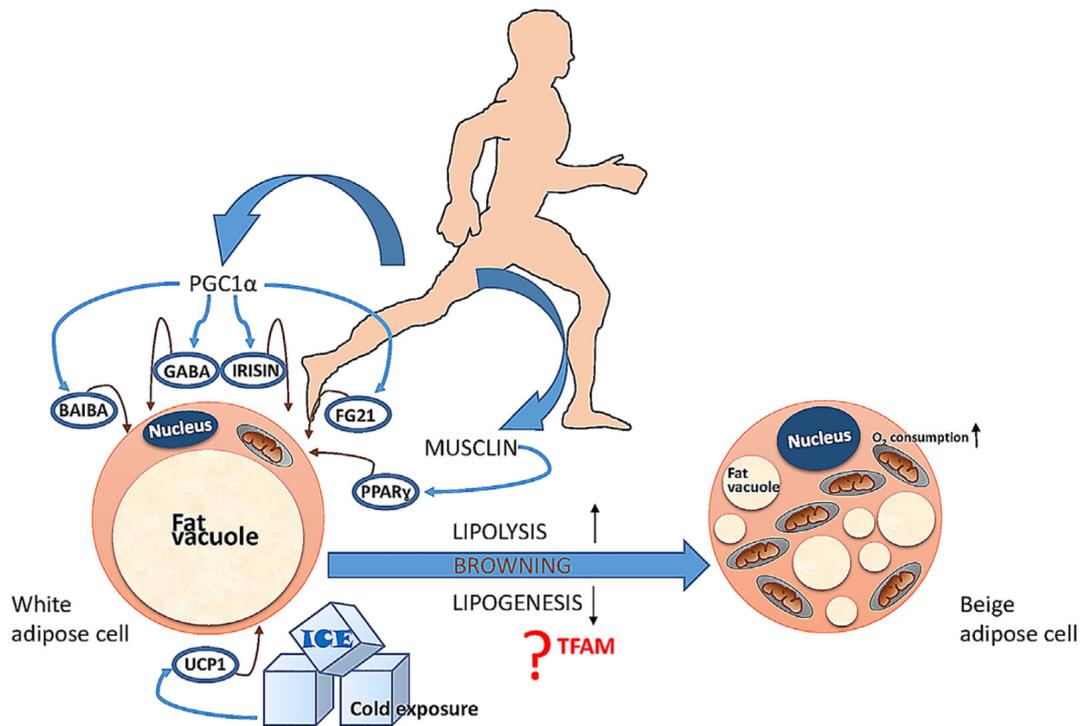


Figura 4. Esquema explicativo de los procesos y las moléculas inductoras del pardeamiento del TAB [4].

### e. RELEVANCIA CLÍNICA

Numerosos estudios demuestran que la actividad del TAM está inversamente asociada con el IMC. Además, la termogénesis inducida por el frío también es significativamente menor en individuos con sobrepeso / obesidad. A falta de estudios que muestren una asociación causal, se postula que el aumento de la adiposidad, especialmente en las regiones subcutáneas, proporciona un mayor aislamiento contra la pérdida de calor y protección contra la exposición al frío. Por tanto, este aumento de aislamiento térmico por parte del TAB mejora la retención de calor, lo que en consecuencia disminuye la capacidad de respuesta de las vías termogénicas al frío. Aunque la exposición al frío de manera repetida puede reducir la adiposidad en individuos delgados sanos, es menos probable que ocurra en individuos obesos con mayor aislamiento adiposo [25].

Los datos recogidos en los ensayos tienen implicaciones para los humanos, sin embargo, muchos de los estudios han sido llevados a cabo en roedores, y existen diferencias significativas en la termoneutralidad y la tasa metabólica en reposo entre humanos y ratones. Es destacable, además, que los ratones pueden regular fácilmente la pérdida de calor a través de la cola. Por lo tanto, se debe tener cuidado al interpretar los datos de ratones y extrapolar la investigación de roedores a humanos, ya que la ropa y la temperatura ambiental externa facilitan la termoneutralidad en humanos. A pesar de estas diferencias, la investigación reciente tiene como objetivo desarrollar estrategias para contrarrestar la obesidad mediante la mejora de la termogénesis y el gasto de energía a través del "beiging".

El uso de agonistas PPAR $\gamma$  biodisponibles por vía oral y agonistas  $\beta$ -adrenérgicos ha

proporcionado un beneficio inmenso para controlar la hiperlipidemia y la resistencia a la insulina asociadas a la obesidad. Sin embargo, también existen reacciones adversas significativas asociadas a dicha terapia. Por lo tanto, existe una clara necesidad de agonistas selectivos de PPAR $\gamma$  o  $\beta_3$ -adrenérgicos efectivos y potentes con efectos secundarios mínimos.

La necesidad de investigación de dichos fármacos tiene la siguiente justificación: el TAB representa una proporción mayoritaria respecto al TAM o al beige en el tejido adiposo corporal total. A diferencia del TAM, que es factor de prevención frente a la obesidad, el TAB se expande sin esfuerzo con una ingesta excesiva de calorías, lo que hace que la termogénesis por parte del TAM quede obsoleta por numerosas razones. El TAM puede quemar eficazmente los lípidos y, cuando se activa constantemente, puede reducir la adiposidad. Sin embargo, la terapia inducida por el frío no es una opción factible para revertir la obesidad, debido al aislamiento térmico de los individuos obesos que se ha comentado anteriormente. En cambio, la investigación demuestra que este mismo sistema de oxidación de lípidos a través de UCP1, podría darse en condiciones de termoneutralidad y usar el TAB como fuente de combustible. El "beiging" del TAB tiene un gran potencial como tratamiento para la reversión de la obesidad, pero está por elucidar un tratamiento que sea seguro, efectivo y específico [25].

## 6. CONCLUSIONES

Para dar una respuesta sobre si es relevante o no el proceso del "beiging" en el tratamiento de la obesidad habría que tener en cuenta tres aspectos:

1. La mayoría de estudios han sido llevados a cabo en ratones y en condiciones de laboratorio, así que habría que ser cauto a la hora de extrapolar los resultados a los humanos y más todavía al ámbito clínico terapéutico.

Si comparamos tasas metabólicas, la tasa metabólica del ratón por cada gramo de masa corporal es mayor que la de los humanos. Esto es debido a que un animal pequeño tiene más superficie corporal en relación a su volumen de tejido metabólicamente activo, lo que se traduce en una mayor disipación de calor y un mayor gasto calórico para mantener simplemente la temperatura corporal, lo que significa que la contribución a la tasa metabólica por parte del TAM es más significativa en ratones que en humanos.

2. Si atendemos al balance calórico, y bajo la premisa de que para perder peso (grasa corporal) hace falta generar un déficit calórico, es decir, gastar más calorías de las que consumimos con la dieta, nos hace falta todavía un dato más exacto de la diferencia del el gasto calórico mediante una inducción del tejido adiposo beige a partir del TAB en relación con una mayor activación del TAM.

Para que haya una pérdida de grasa corporal significativa haría falta un déficit calórico mínimo de unas 250 kcal/día, que resultaría en una pérdida de 250 g de

peso corporal a la semana (a mayor déficit, mayor pérdida de peso).

Está comprobado que los humanos tenemos una tendencia a infraestimar el consumo de calorías y a sobreestimar el gasto calórico. Además, en el caso de la obesidad entran factores psicológicos de comportamiento alimentario y fisiológicos que, a través de circuitos de recompensa de la dopamina, resultan en una supercompensación y una mayor ingesta calórica, incluso se dan casos de atracones. Por tanto, buscar un aumento del gasto calórico únicamente a partir del “beiging” o de la inducción del TAM sin una intervención nutricional y deportiva probablemente no acabe traduciéndose en un déficit calórico y por tanto no siendo clínicamente relevante.

Ahora bien, si a una intervención dietética y deportiva bien programadas se le suma un gasto calórico extra a partir del “beiging”, sí que podría resultar un tratamiento interesante a la par que relevante. Además, aún suponiendo que no hubiera un déficit calórico más grande, es decir, que ese pequeño aumento del gasto calórico se compensara con una mayor ingesta de calorías de la dieta (resultando obviamente en el mismo déficit calórico), podría suponer una mayor adherencia a la intervención dietética y a rebajar la percepción de sacrificio por parte del paciente.

3. Como se ha mencionado en la introducción, la obesidad es una metabolopatía y ha de ser tratada como tal. No es simplemente un caso de acumulación de grasa y una cuestión de balance energético. El tratamiento de la obesidad podría resultar exitoso para la salud del paciente aún sin haber una pérdida de peso pero sí una mejora del perfil metabólico (i.e glucemia y lipemia). Utilizar el “beiging” como parte del tratamiento de la obesidad podría resultar beneficioso más allá del gasto calórico. Como se ha visto en los estudios y se ha mencionado en esta revisión, tanto el TAM como el tejido adiposo beige no solo resultan beneficiosos por la inducción de la termogénesis en sí, si no porque utilizan ácidos grasos libres y glucosa como fuentes de energía, lo que se traduce en una reducción de la resistencia a la insulina y de la hiperlipidemia.

Por tanto, la mejora de estos dos parámetros mejoraría el estado metabólico y la salud de los pacientes, habiendo menor riesgo de comorbilidades asociadas a la obesidad. El “beiging” seguiría sin bastar por sí solo como tratamiento anti-obesidad, pero sí que resultaría relevante en el tratamiento de la obesidad desde el punto de vista de la salud metabólica del paciente.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ezquerro S, Frühbeck G, Rodríguez A. *El tejido adiposo, protagonista en las alteraciones metabólicas de la obesidad*. SEBBM. 2016; 190: 23-28.
- [2] Melissa G. Farb et al. *Reduced Adipose Tissue Inflammation Represents an Intermediate Cardiometabolic Phenotype in Obesity*. Journal of the American College of Cardiology. 2011; 58: 232-237.
- [3] Manuel Román Benito de las Heras. *Papel del tejido adiposo blanco, marrón y perivascular en las complicaciones vasculares asociadas a la obesidad*. 301-325
- [4] Nevena J, Pankaj C, Suresh C. *Browning of White Fat: Novel Insight Into Factors, Mechanisms, and Therapeutics*. J Cell Physiol. 2017 January; 232(1): 61–68.
- [5] Wenshan Wang and Patrick Seale. *Control of brown and beige fat development*. Nat Rev Mol Cell Biol. 2016 November; 17(11): 691–702.
- [6] Jorly Mejia Montilla, Eduardo Reyna-Villasmil, Melchor Álvarez, Andreina Fernández Ramírez. *Células madre pluripotentes inducidas y adipogénesis*. Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo. 2018; 16 (1).
- [7] Sharp LZ, et al. *Human BAT possesses molecular signatures that resemble beige/brite cells*. PLoS One. 2012; 7:e49452.
- [8] Wu J, et al. *Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human*. Cell. 2012; 150:366–76.
- [9] Jespersen NZ, et al. *A classical brown adipose tissue mRNA signature partly overlaps with brite in the supraclavicular region of adult humans*. Cell metabolism. 2013; 17:798–805.
- [10] Schulz TJ, et al. *Identification of inducible brown adipocyte progenitors residing in skeletal muscle and white fat*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011; 108:143–8.
- [11] Ussar S, et al. *ASC-1, PAT2 and P2RX5 are cell surface markers for white, beige, and brown adipocytes*. Sci Transl Med. 2014; 6:247ra103.
- [12] So Hun Kim, Jorge Plutzky. *Brown Fat and Browning for the Treatment of Obesity and Related Metabolic Disorders*. Diabetes Metab J. 2016; 40: 12-21.
- [13] Ohno H, Shinoda K, Spiegelman BM, Kajimura S. *PPARgamma agonists induce a white-to- brown fat conversion through stabilization of PRDM 16 protein*. 2012 Cell Metab 15:395–404.
- [14] Subbotina E, Sierra A, Zhu Z, Gao Z, Koganti SR, Reyes S, Stepniak E, Walsh SA, Acevedo MR, Perez-Terzic CM, Hodgson-Zingman DM, Zingman LV. *Musclin is an activity-stimulated myokine that enhances physical endurance*. 2015 Proc Natl Acad Sci USA 112:16042–16047.

- [15] Liu Y, Huo X, Pang XF, Zong ZH, Meng X, Liu GL. *Musclin inhibits insulin activation of Akt/protein kinase B in rat skeletal muscle*. 2008 J Int Med Res 36:496–504.
- [16] Nishizawa H, Matsuda M, Yamada Y, Kawai K, Suzuki E, Makishima M, Kitamura T, Shimomura I. *Musclin, a novel skeletal muscle-derived secretory factor*. 2004 J Biol Chem 279:19391–19395.
- [17] Pontus Boström, Jun Wu, Mark P. Jedrychowski, Anisha Korde, Li Ye, James C. Lo, Kyle A. Rasbach, Elisabeth Almer Boström, Jang Hyun Choi, Jonathan Z. Long, Shingo Kajimura, Maria Cristina Zingaretti, Birgitte F. Vind, Hua Tu, Saverio Cinti, Kurt Højlund, Steven P. Gygi and Bruce M. Spiegelman. *A PGC1 $\alpha$ -dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis*. Nature. 2012; 481(7382): 463–468.
- [18] Kurdiová T, Balaz M, Vician M, Maderová D, Vlcek M, Valkovic L, Srbecký M, Imrich R, Kyselovicová O, Belan V, Jelok I, Wolfrum C, Klimes I, Krssak M, Zemkova E, Gasperikova D, Ukropec J, Ukropcova B. *Effects of obesity, diabetes and exercise on Fndc5 gene expression and irisin release in human skeletal muscle and adipose tissue: In vivo and in vitro studies*. 2014 J Physiol 592:1091–1107.
- [19] Xie ZX, Xia SF, Qiao Y, Shi YH, Le GW. *Effect of GABA on oxidative stress in the skeletal muscles and plasma free amino acids in mice fed high-fat diet*. 2015 J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 99:492–500.
- [20] Braun M, Wendt A, Buschard K, Salehi A, Sewing S, Gromada J, Rorsman P. *GABAB receptor activation inhibits exocytosis in rat pancreatic beta-cells by G-protein-dependent activation of calcineurin*. 2004 J Physiol 559:397–409.
- [21] Nakamura Y, Hinoi E, Takarada T, Takahata Y, Yamamoto T, Fujita H, Takada S, Hashizume S, Yoneda Y. *Positive regulation by GABA(B)RI subunit of leptin expression through gene transactivation in adipocytes*. 2011 PLoS ONE 6: e20167.
- [22] Roberts LD, Bostrom P, O'Sullivan JF, Schinzel RT, Lewis GD, Dejam A, Lee YK, Palma MJ, Calhoun S, Georgiadi A, Chen MH, Ramachandran VS, Larson MG, Bouchard C, Rankinen T, Souza AL, Clish CB, Wang TJ, Estall JL, Soukas AA, Cowan CA, Spiegelman BM, Gerszten RE. *Beta-Aminoisobutyric acid induces browning of white fat and hepatic beta-oxidation and is inversely correlated with cardiometabolic risk factors*. 2014 Cell Metab 19:96–108.
- [23] Shi CX, Zhao MX, Shu XD, Xiong XQ, Wang JJ, Gao XY, Chen Q, Li YH, Kang YM, Zhu GQ. *Beta-aminoisobutyric acid attenuates hepatic endoplasmic reticulum stress and glucose/lipid metabolic disturbance in mice with type 2 diabetes*. 2016 Sci Rep 6:21924.
- [24] Jung TW, Hwang HJ, Hong HC, Yoo HJ, Baik SH, Choi KM. *BAIBA attenuates insulin resistance and inflammation induced by palmitate or a high fat diet via an AMPK-PPAR $\delta$ -dependent pathway in mice*. 2015 Diabetologia 58:2096–2105.
- [25] Baskaran Thyagarajan, Michelle T. Foster. *Beiging of white adipose tissue as a therapeutic strategy for weight loss in humans*. Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation, Volume 31, Issue 2, 2017 0016, ISSN (Online) 1868-1891.

[26] José Esteban Costa Gil, Eduardo Spined. La tormentosa relación entre las grasas y el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2: actualizado. Parte 2. 2017, Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo, 54 (4): 184-195.