



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL



ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA

SECCIÓN ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

“Correlación de la Expresión del RNAm de Genes Candidato

Relacionados con Inflamación en Tejido Adiposo Subcutáneo de

Mujeres con Obesidad Grado 1 y Grado 2 Bajo un Estimulo de Ejercicio

Durante 12 Semanas”

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA SALUD

PRESENTA:

JOSÉ LEONARDO ENRIQUE FLORES GARCÍA

DIRECTORES

DR. AARÓN DOMINGUÉZ LOPÉZ

DR. ANGEL MILIAR GARCIA

MEXICO D. F.

JULIO 2011



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

SIP-14-BIS

En la Ciudad de México siendo las 8:00 horas del día 25 del mes de Mayo del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de la E.S.M para examinar la tesis titulada:

“Correlación de la Expresión del RNAm de Genes Candidato Relacionados con Inflamación en Tejido Adiposo Subcutáneo de Mujeres Obesidad Grado 1 y Grado 2 Bajo un Estímulo de Ejercicio Durante 12 Semanas”

Presentada por el alumno:

Flores

Apellido paterno

García

Apellido materno

José Leonardo Enrique

Nombre(s)

Con registro:

A	0	9	0	6	9	5
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

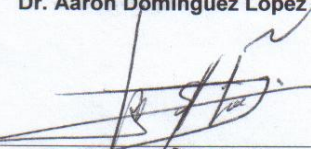
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

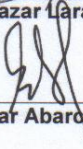
Directores de tesis


Dr. Aarón Domínguez López

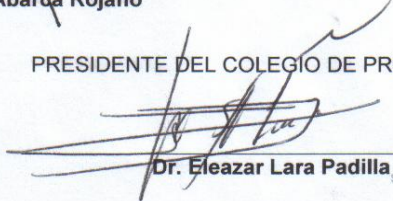

Dr. Ángel Millar García


Dr. Eleazar Lara Padilla


M. en C. Evangelina Muñoz Soria


Dr. Edgar Abarca Rojano

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


Dr. Eleazar Lara Padilla



ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
 I.P.N.
 SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
 E INVESTIGACIÓN
 & CONTROL ESCOLAR



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México el día 25 del mes Mayo del año 2011, el que suscribe Flores García José Leonardo Enrique alumno del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD con número de registro A090695 adscrito a la Escuela Superior de Medicina, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. Aarón Domínguez López, Dr. Ángel Miliar García y cede los derechos del trabajo intitulado “Correlación de la Expresión del RNAm de Genes Candidato Relacionados con Inflamación en Tejido Adiposo Subcutáneo de Mujeres Obesidad Grado 1 y Grado 2 Bajo un Estímulo de Ejercicio Durante 12 Semanas”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección leonardoflores2006@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

José Leonardo Enrique Flores García

Nombre y firma

El presente trabajo de tesis se realizo en el laboratorio de Biología Molecular del instituto Nacional de Nutrición DR. Salvador Zubiran, y el Laboratorio de Biología Molecular de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de la escuela superior de Medicina del instituto Politécnico Nacional bajo la dirección del Dr. Aarón Domínguez López y Dr. Ángel Miliar García.

AGRADECIMIENTOS

A la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional por darme la oportunidad de continuar mi preparación profesional y académica en sus instalaciones.

Al CONACYT por creer en mi proyecto y darme la oportunidad de continuar mi formación académica.

A los distinguidos miembros del jurado por su valioso tiempo y críticas para contribuir en mi trabajo realizado.

A mi Esposa María Leticia Gutiérrez Márquez y a mi hijo Leonardo Daniel Flores Gutiérrez, por brindarme el apoyo de continuar con mi preparación académica y profesional y haberles quitado parte del tiempo, para conseguir un sueño personal y de familia.

Al Dr. Aarón Domínguez López por confiar en mí y tenerme paciencia necesaria para terminar un proyecto con éxito, además de darme el apoyo necesario para conseguir este objetivo.

ÍNDICE

I. RESUMEN	2-6
I. Abstrac	6-10
II GENERALIDDES	
2.1 TEJIDO ADIPOSO	11-12
2.1.3 CAPACIDAD FUNCIONA L	12-14
2.1.4 FUNCION CUALITATIVA	14-15
2.1.6 EPIDEMIOLOGÍA	15-16
2.1.7 FACTORES GENETICOS	16-17
2.1.8 FACTORES AMBIENTALES	17-18
2.2.1 LEPTINA	18-22
2.2.2 FACTORES QUE PRODUCEN VARIACIÓN EN LOS NIVELES DE LEPTINA SERICA	22
2.3.1 FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (TNF α)	23
2.3.2 TNF α DERIVADA DEL TEJIDO ADIPOSO EN ENFERMEDAD METABOLICA	24-28
2.3.4 QUE ES LO QUE INDUCE LA EXPRESIÓN DE TNF α EN TEJIDO ADIPOSO	28-29
2.2.5 MECANISMOS MOLECULARES DE ACCIÓN DE TNF α EN ADIPOCITOS	29-34
2.3.6 TNF α Y ENDOCRINOLOGÍA DEL ADIPOCITO	35
2.3.7 TNF α Y EL MECANISMO LIPIDICO DEL ADIPOCITO	35
2.3.8 TNF α Y DIFERENCIACIÓN DEL ADIPOCITO	36
2.3.9 BLANCOS TRANSCRIPCIONALES DE TNF α EN EL ADIPOCITO	36-37

2.3.10	TNF α TEJIDO ADIPOSO MARRON Y TERMOGENÉISIS	37-38
2.4.1	METALOPROTEINASA 9 (MMP9)	38-47
2.5.1	INTERLEUCINA 6 (IL6)	47-51
2.6.1	RECEPTOR TIPO TOLL (TLR4)	51-58
2.6.2	DESREGULACIÓN DE TLR4 POR EJERCICIO	58
2.6.3	ACTIVACION DE TLR2 Y TLR4 POR RESISTENCIA AL EJERCICIO	59-60
2.6.4	COMO SE INICIA LA SEÑALIZACIÓN DE TLR	60-64
2.7.1	INTERLEUCINA 18 (IL18)	64-66
2.8.1	INTERLEUCINA 33 (IL33)	66-67
2.9.1	CASPASA 1 (Casp1)	67-68
2.10.1	ESTEROIL COENZIMA DESATURASA 1 (SCD1)	68-69
2.11.1	ESTEROL REGULADOR ELEMENTO PROTEINA DE UNIÓN SREBP1c	70-72
2.12.1	INTERLEUCINA 1 β (IL-1 β)	72-73
2.13.1	NLPR3	73-74
III	OBJETIVO GENERAL	75
3.1.1	OBJETIVO PARTICULAR	75
3.1.2	JUSTIFICACIÓN	76
3.1.3	HIPOTESIS	77
IV	MATERIAL Y METODOS	77
4.1.1	DEFINICIÓN OPERATIVA DE LA VARIABLE	77
4.1.2	DEFINICIÓN DE LOS INDICADORES DE LA VARIABLE	77
4.1.3	UBICACIÓN DEL ESTUDIO ESPACIO Y TIEMPO	77
4.1.4	POBLACIÓN Y MUESTRA	78

	H
4.1.5 TAMAÑO DE LA MUESTRA	78
4.1.6 CRITERIO DE SELECCIÓN	78
4.1.7 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	78
4.1.8 EVALUACIÓN ANTROPOMETRICA	78
4.2.1 EXTRACCION DE RNA	79
4.2.2 PREPARACIÓN DE RNA	79-80
4.2.3 PURIFICACIÓN DE RNA	81
4.2.4 SINTESIS DE cDNA	81-84
4.2.5 PCRRT	84
V RESULTADOS	84-95
5.1.1 CORRELACIONES	96-104
VI DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	104-105
VII BIBLIOGRAFIA	106-114

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 La obesidad como enfermedad poligénica	4
Figura 2 Secreción de leptina por los adipocitos	21
Figura 3 TNF α y su ruta de señalización	32
Figura 4 Mecanismos que inducen resistencia a la insulina	34
Figura 5 Presencia o ausencia de metaloproteasa 9	40
Figura 6 Localización inmunohistoquímica de IL-6	50
Figura 7 Ruta de señalización involucrada en LPS	52
Figura 8 Información cruzada entre macrófagos y adipocitos	53
Figura 9 Cascada de señalización de TLR4	63
Figura 10 Regulación y efectos biológicos de IL-18	65
Figura 11 Mecanismo propuesto para SCD1	69
Figura 12 Posible mecanismo molecular de adipogenesis e inflamación	71
Figura 13 Ruta de señalización de NLPR3	74
Figura 14 Extracción de RNA total	79

GLOSARIO

ABCA1 Transportador (miembro 1 del cassette ATP-que ata de la subfamilia humana ABCA del transportador) es una proteína humana y gen, implicado en la producción de HDL. Colesterol de alta densidad

ACTH Hormona Adrenocortropica Tiroxina

AdipoR1 Adiponectina (también conocida como Acrp30, Adiponectin30, AdipoQ, apM1 o GBP28) es una hormona sintetizada exclusivamente por el tejido adiposo que participa en el metabolismo de la glucosa y los ácidos grasos.

AdipoR2 Adiponectina (también conocida como Acrp30, Adiponectin30, AdipoQ, apM1 o

ADRB2 El receptor adrenérgico beta 2, también conocido como adrenoreceptor β_2 , es una proteína integral de membrana, que actúa como receptor beta adrenérgico. El término también denota al gen que codifica al receptor.

ADRB3 El receptor adrenérgico beta 3, también conocido como adrenoreceptor β_3 , es una proteína integral de membrana que actúa como receptor beta adrenérgico. El término también denota al gen que codifica al receptor.

ATMs Macrófagos de Tejido Adiposo

BAT Tejido Adiposo Marrón

CASP1 Caspasa 1

ER Retículo Endoplasmico

ERK Cinasa Proteína Activada

Fenotipo a la expresión del genotipo en función de un determinado ambiente. Los rasgos fenotípicos incluyen rasgos tanto físicos como conductuales.

FFA Ácidos Grasos Libres

GNB3 Nucleótido Guanina-proteína de unión G(I)/G/(S)/G(T) subunidad beta-3 es una proteína que en el humano es codificada por el GNB3

GRL Grelina

HDL Colesterol de Alta Densidad

IDF Federación Internacional de Diabetes

IFN Interferón

IL1 β Interleucina 1 beta

IL-6 Interleucina 6

IMC Índice de Masa Corporal

INS Insulina

JAK-2 Janus Cinasa

JNK c-Jun Cinasa N Terminal

KO Animales *knock-out* (KO) es un organismo genéticamente modificado (OGM), que carece de la expresión de un gen en particular

LDLR Receptor de lipoproteína de baja densidad

LEP Leptina

LEPR Receptor de Leptina

LH Hormona Lutinizante

LIPE Lípidos esterificados

LPS Lipopolisacaridos

LXR α Receptor X del Hígado

MAP4K4 Proteína cinasa Mitogeno-activada cinasa 4

MAPK Proteína Cinasa Activación Mitogena

MMP9 Metaloproteinasas de Matrix

NEFAs Ácidos Grasos no Esterificados

NFkB Factor de Necrosis Kappa Beta

NLPR3 Receptor de adiponeutrina

OMS Organización Mundial de la salud

PPAR Receptor de Peroxisoma Parcial Activado

RNAm Acido Ribonucleico Mensajero

ROS Especies Reactivas de Oxigeno

SCD1 Steroil Coenzima Desaturasa

SFAs Ácidos Grasos Saturados

SNC Sistema Nervioso Central

SREBP1 Proteína de Unión de Elemento de Respuesta a Esterol

SVF Facción Significante Extravascular

TG Trigliceridos

TIRAP Proteínas Adaptadoras que Contienen el Dominio TIR

TLR4 Receptor Tipo Toll

TNFR1 Receptor del Factor de Necrosis Tumoral α 1

TNF α Factor de Necrosis Tumoral Alfa

UCP1 Proteína desacopladora mitocondrial

UCP2 Proteína desacopladora mitocondrial

UCP3 Proteína desacopladora mitocondrial

WAT Tejido Adiposo Blanco

WT Wild Type (Especie silvestre (pura)).

I RESUMEN EN ESPAÑOL

La obesidad es una enfermedad crónica con inflamación moderada y es una de las enfermedades que mayor impacto tienen en la economía de la persona que la padece como para el sector salud de un país. La obesidad de acuerdo a la organización de la salud (OMS) se define como aquellas personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) por arriba de 30 Kg/m². Datos proporcionados por la OMS refieren que hay aproximadamente 300 millones de personas con obesidad en el mundo, en México el 70 % de la población padece de sobrepeso u obesidad de ese porcentaje las mujeres tienen un 72 % (del 100 % que representan las mujeres en el 70 total % y los hombres el 67 % y que (ENSANUT 2006) ha ubicado a nuestro país en segundo lugar de obesidad en los adultos solo por debajo de los Estados Unidos de Norte América que ocupa el primer lugar 72.5 millones de adultos (CDC), en los niños se encuentra en primer lugar con tercio de la población infantil (ENSANUT 2006), lo cual resulta de interés para el estudio de esta enfermedad para de alguna manera dar una probable solución pues ésta se acompaña de otras comorbilidades como la diabetes tipo 2, enfermedades cardíacas, hipertensión y resistencia a la insulina solo por mencionar algunas.⁽¹⁾

Se considera que la obesidad tiene un mecanismo muy complejo relacionado con la ingesta calórica y el gasto energético, involucra sistema neuronal y miles de genes que interactúan al mismo tiempo, reflejando así los fundamentos biológicos importantes para el balance entre la ingesta y el gasto energético. Se ha tenido un avance importante en identificar el papel del hipotálamo y el tronco cerebral en los mecanismos hormonales y neuronales; el cerebro informa al hipotálamo sobre la ingesta y almacenaje de nutrientes al momento de generarse un cambio autónomo y endocrino. Algunos genes involucrados en la regulación homeostática son importantes en el balance energético tal como lo han manifestado los modelos de obesidad monogénica. Sin embargo, los mecanismos participantes no están del todo claros, por lo que este tema ha llamado la atención de los investigadores en los últimos 15 años.⁽²⁾

El medio ambiente y el estilo de vida pueden influenciar la ingesta y gasto energético. En un ambiente obesogénico (comida chatarra e inactividad física) dado por la sociedad moderna industrializada se ejercen una presión muy fuerte para el incremento de la masa grasa; por el contrario, un ambiente restrictivo de alimentos produce que la ingesta se vea disminuida y la actividad física se lleve a cabo.⁽¹⁾

El tejido adiposo siempre ha sido referido como sitio principal de almacén de energía, sin embargo, también produce señales que fluyen hacia el cerebro y otros órganos. Por ejemplo, la leptina (hormona que produce la sensación de saciedad) es producida y liberada por el tejido adiposo. Así mismo, existen otros mensajeros característicamente producidos por el tejido adiposo tales como la adiponectina, resistina y citocinas como factor de necrosis tumoral- α e Interleucina 1, las cuales, ahora se sabe tienen efectos directos sobre el cerebro y órganos periféricos involucrados en el control y balance energético por lo en este estudio se analizó el RNAm de los siguientes genes Leptina, Receptor de Leptina, TNF α , IL-6, MMP9, TLR-4, IL6, IL10, IL18, IL33, NLRP3, CASP1, SCD1, SREBP1, IL1 β , LXR α , ABCA1, UCP3, AdipoR1, AdipoR2 y TNF α .

La obesidad es una enfermedad compleja multifactorial que está influenciada por el comportamiento de factores genéticos, epigenéticos y ambientales, el resultado de esta relación está dado por el invalance entre la ingesta y gasto energético, favorecido por un balance positivo, cuando la ingesta se hace crónica y exede ese balance entre la ingesta y gasto, se presenta la acumulación de lípidos y favorece la adipogenesis en el tejido adiposo.⁽¹⁾ Por lo que en este estudio se ha analizado la expresión génica de genes que están asociados a la obesidad así como a la inflamación en la que se obtuvieron cambios importantes y correlaciones positivas o negativas con significancia estadística como se demostró por análisis estadístico t de student para muestras independientes con $P= 0.01$ ó $P=0.05$, así como también las correlaciones de Pearson con $P=0.01$ y $P=0.05$ de los genes estudiados.

I SUMMARY IN SPANISH

Obesity is a chronic condition with moderate inflammation and is one of the diseases that have the greatest impact on the economy of the person suffering and for the health sector in a country. Obesity according to World Health Organization (WHO) is defined as those with a body mass index (BMI) above 30 kg/m². Data provided by the WHO report that there are approximately 300 million obese people in the world, in Mexico 70% of the population is overweight or obese women have that percentage 72% (100% representing women the total 70% and men 67% and (ENSANUT 2006) has placed our country in second place for obesity in adults just below the United States of America ranks first 72.5 million adults (CDC) in children is first with one third of children (ENSANUT 2006), which is of interest to the study of this disease to somehow give a probable solution as it is accompanied by other comorbidities such as diabetes type 2, heart disease, hypertension and insulin resistance, just to name a few. (1)

It is believed that obesity has a very complex mechanism related to caloric intake and energy expenditure, and neural system involving thousands of genes that interact at the same time, reflecting the biological importance to the balance between energy intake and expenditure. It has been a breakthrough in identifying the role of the hypothalamus and the brainstem in neural and hormonal mechanisms, the brain tells the hypothalamus on intake and nutrient storage in generating autonomic and endocrine change. Some genes involved in the homeostatic regulation are important in the energy balance expressed as models of monogenic obesity. However, the mechanisms involved are not entirely clear, so this issue has attracted the attention of researchers in the past 15 years (2).

The environment and lifestyle can influence food intake and energy expenditure. In obesogenic environment (fast food and physical inactivity) given by modern industrial society will exert very strong pressure for increased fat mass, on the contrary, a restrictive environment that produces food intake is diminished and the activity physics takes place.(1) Adipose tissue has always been referred to as primary site of energy storage, however, also produces signals that flow to the brain and other organs. For example, leptin (a hormone that produces satiety) is produced and released by adipose tissue. Likewise, there are other messengers typically produced by adipose tissue such as adiponectin, resistin and cytokines such as tumor necrosis factor- α and interleukin-1, which now are known to have direct effects on the brain and peripheral organs involved in the control and energy balance at this study analyzed the mRNA of these genes leptin, leptin receptor, TNF, IL-6, MMP9, TLR-4, IL6, IL10, IL18, IL33, NLRP3, CASP1, SCD1, SREBP1, IL1 β , LXR α , ABCA1, UCP3, AdipoR1, AdipoR2 and TNF α .

Obesity is a multifactorial complex disease that is influenced by the behavior of genetic, epigenetic and environmental, the result of this relationship is given by the imbalance between intake and energy expenditure, helped by a positive balance when the intake becomes chronic and exceeds that balance between intake and expenditure, shows the accumulation of lipids and promotes adipogenesis in adipose tissue. (1) So in this study we analyzed the gene expression of genes that are associated with obesity and inflammation in which changes were important and positive or negative correlations with statistical significance as demonstrated by statistical analysis Student t test for independent samples

with $P = 0.01$ or $P = 0.05$, as well as Pearson correlations with $P = 0.01$ and $P = 0.05$ of the genes studied.

II GENERALIDADES

2.1 Tejido adiposo

El tejido adiposo es un órgano difuso y su función es almacenar y liberar la reserva de energía en forma de triacilgliceroles, la grasa es almacenada en células especiales (los adipocitos) con funciones específicas. En este entendido se discute al tejido adiposo con la capacidad de una función evolutiva, especificidad regional y funciones cualitativas.

2.1.2 Evolución

Muchas especies tienen alguna forma de almacenar su energía, algunos peces como el salmón almacenan su energía en el músculo mientras que los tiburones lo hacen en el hígado, está puede ser una practica de cómo la energía se almacena donde se necesita. Cuando se necesita almacenar grandes cantidades de energía se realiza en un órgano en especial como el tejido adiposo, muchas de las especies tienen reservas de energía almacenada en tejido adiposo. La localización del tejido adiposo muestra gran variación, algunos roedores almacenan su energía en la cola. Los gorilas almacenan su energía en el cuello, algunos renos en el ártico tienen depósitos de grasa alrededor de los cascos. La grasa es rica en ácidos grasos mono insaturados que protege en forma extrema la

solidificación de sales y está alrededor del tejido adiposo subcutáneo y estimulando el consumo de agua fresca. Los hombres tienen el depósito de grasa intra-abdominal subcutánea, las extremidades son normalmente separadas por la inconveniencia del transporte de grasa subcutánea, los grandes depósitos de grasa subcutánea se encuentran en la región abdominal especialmente en mujeres en la región de la cadera, bajo esa localización ello conduce a la función muscular. La grasa intra abdominal se encuentra en el mesenterio y omento pero solo en la región retro peritoneal. La diferencia en sexo y la localización de la grasa tiene probablemente una función significativa. Las mujeres tienen aproximadamente un 50 % más de tejido adiposo que los hombres en los depósitos de la cadera. La grasa en esas regiones tiene una función específica, esta es un aporte de energía al feto durante el periodo de gestación y también, en el recién nacido es una fuente de energía. La grasa de esos depósitos es difícil de movilizar bajo condiciones ordinarias las cuales están cambiando durante y después del parto, este es un ejemplo de la típica localización del tejido adiposo en las mujeres con una función específica. En una situación de un aporte adecuado de alimentos, esta función no es necesaria pero probablemente es importante en condiciones de supervivencia para una mujer embarazada. Durante el periodo fetal y de recién nacido, el aporte alimenticio es importante, una consecuencia de la especificidad de esta función es que esos depósitos son difíciles de eliminar durante la pérdida de peso, esta es una observación que característicamente ha sido realizada en las mujeres. ⁽⁶⁾

2.1.3 Capacidad funcional

Las células principales del tejido adiposo, los adipocitos son formados por precursores de células en un proceso de diferenciación de múltiples pasos, el producto final tiene todas las funciones específicas del adipocito, las células que no han acumulado grasa tienen un diámetro de 10-12 micrómetros, tamaño similar al de los linfocitos, después de la acumulación de grasa el diámetro se incrementa hasta 10 veces su tamaño, esto se significa que el tamaño ha aumentado 100 veces, esto permite entender la enorme plasticidad que tiene el tejido adiposo y la capacidad para almacenar energía. El tejido adiposo está compuesto por un gran número de células de diferentes tipos, las células del endotelio están involucradas con el aporte sanguíneo del tejido mientras la función de otras células no se ha podido descifrar. El tejido adiposo está enervado por el sistema nervioso autónomo, ambas inervaciones del flujo sanguíneo son muy importantes en la función de los adipocitos. ⁽⁶⁾

2.1.4 Especificidad regional

Se presentan dos tipos de hipótesis que verdaderamente explican este fenómeno, una de éstas hipótesis dice que el depósito de grasa visceral central genera factores de riesgo para diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular. Los factores de riesgo deberían de ser generados en el hígado, la acción de los ácidos grasos libres liberados tempranamente movilizándolo los depósitos de grasa abdominal. La liberación de lipoproteínas se potencia debido al acceso a ácidos grasos libres y rápidamente limitan su síntesis, se produce el incremento de gluconeogénesis y el incremento en la producción de la glucosa. La insulina no puede ejercer su función en las células del hígado y entonces surge la hiperinsulinemia. El resultado final es que la hiperproteínemia, hiperinsulinemia e hiperglucemia son los factores de riesgo para la diabetes tipo 2 y enfermedades

cardiovasculares. La contraparte de esta hipótesis es que no explica porque la cantidad de grasa visceral se incrementa, esto aparentemente es debido a la exposición del hígado a ácidos grasos libres originados por la grasa visceral.⁽⁶⁾

La otra hipótesis sugiere que existe una no regulación central neuro-endocrina en la obesidad abdominal. Esto se debe a que la grasa de los depósitos viscerales genera factores de riesgo característicos como una alteración neuro-endocrina en el trabajo de activación del eje hipotálamo-hipófisis resultando en un incremento periódico en la producción de cortisol. El cortisol es mejor conocido por el efecto de acumulación de la grasa visceral causando resistencia a la insulina, estos son los dos síntomas de obesidad abdominal. Un efecto conjunto con la resistencia a la insulina es la dislipidemia, ambos fenotipos se consideran síntomas clínicos del síndrome metabólico. La hipertensión tiene una conexión con la obesidad abdominal y es probablemente causada por una activación paralela del sistema nervioso simpático central el cual esta funcionalmente conectado con el eje hipotalámico. Las diferentes formas de estrés pueden ser un factor que active esa circunstancia de regulación central. Esta hipótesis tiene la ventaja que abarca la cadena completa de los diferentes componentes. Es posible que estas dos hipótesis puedan ser combinadas y que ambos mecanismos contribuyan en la patogénesis de la obesidad.⁽⁶⁾

2.1.5 Función cualitativa

El tejido adiposo es metabólicamente activo, los adipocitos son abundantes en receptores hormonales de superficie celular y citoplásmicos que intervienen en la expresión de un gen. Los adipocitos tienen dos funciones principalmente, la de acumular y movilizar los

triglicéridos y la de depósito de almacenamiento de grasa. En los adipocitos se acumulan partículas ricas en triglicéridos por la red de capilares, los triglicéridos son subsecuentemente hidrolizados por lipoproteína lipasa, los ácidos grasos son entonces capturados por los adipocitos adyacentes, presumiblemente se da en forma posterior el lisamiento de la membrana y se almacena la gota de grasa en la célula. La lipoproteína lipasa es sintetizada por el adipocito bajo la influencia de hormonas donde la insulina y el cortisol son los principales estímulos. La interacción insulina-cortisol son los iniciadores de los efectos de transcripción del gen de la lipoproteína lipasa. El metabolismo de la grasa es regulado primariamente por otra enzima hormona sensible a lipasa, esta enzima es activada directamente por catecolaminas principalmente para el sistema nervioso simpático vía receptores adrenérgicos en la superficie celular conduciendo a una cascada de eventos con fosforilación de la lipasa como paso final de la activación, la insulina es el principal inhibidor. La lipasa hidroliza los triglicéridos resultando en la liberación ácidos grasos libres y glicerol, algunos de los ácidos grasos libres son re esterificados en el adipocito mientras otros son liberados a la circulación donde ellos son transportados unidos a albumina. Los adipocitos además de producir los ácidos grasos libres y glicerol también producen otras sustancias como angiotensinogeno, citocinas y leptina. ⁽⁶⁾

2.1.6 Epidemiología

La obesidad representa en la actualidad un problema sanitario de primera magnitud. Según la OMS, asistiremos a una verdadera epidemia sanitaria en el siglo XXI. Múltiples estudios han puesto su atención en el impacto producido por la obesidad sobre la morbilidad de diferentes poblaciones. De estas observaciones se concluye que en

poblaciones de similares características (incluyendo edad, sexo, grupo étnico y condición socioeconómica) existe una mayor morbilidad y mortalidad en pacientes obesos que en sujetos con normopeso, y por lo tanto la obesidad constituye un importante factor de riesgo en la aparición de otras enfermedades metabólicas como la HTA, Dislipidemia, Diabetes tipo 2, junto a las cuales constituye el denominado Síndrome plurimetabólico o síndrome de Insulino resistencia. La obesidad debe ser considerada como una entidad heterogénea y determinada por múltiples factores. Su heterogeneidad hace necesario un abordaje amplio del tema, reconociendo diferentes formas clínicas con implicancias terapéuticas y pronósticas también diferentes.

De este concepto surge la necesidad de clasificar distintas formas de obesidad de acuerdo con determinados parámetros:

1. Exceso de grasa corporal.
2. Distribución de grasa corporal.
3. Edad de comienzo.
4. Celularidad.

2.1.7 Factores genéticos

Es posible que la composición genética de una persona cause directamente obesidad; ejemplos de esto son los trastornos como el síndrome de Prader-Willi y el síndrome de Bardet-Biedl. Sin embargo, la mayoría de los casos de obesidad mórbida no se basan únicamente en dicha causa genética. El término “factores genéticos” puede entenderse con más facilidad como “herencia”. Se ha observado una predisposición familiar a la obesidad,

siendo más frecuente en algunas familias que en otras. Esto sugeriría causas genéticas. Sin embargo, una familia determinada también comparte probablemente un estilo de vida y una dieta similares, lo que contribuiría a la incidencia (o ausencia) de obesidad.

Parece que al menos existe una asociación entre la herencia y la obesidad. En un conocido estudio sobre este tema, se halló que los adultos que fueron adoptados siendo niños tenían pesos corporales más similares a los de sus padres biológicos que a los de sus padres adoptivos, lo que sugiere que la composición genética tuvo más influencia sobre su peso corporal (y la incidencia de obesidad) en comparación con el entorno en el hogar de su familia adoptiva. ⁽⁷⁾

En otro estudio citado frecuentemente se observó que los gemelos, aún si fueron criados en forma separada, tenían pesos similares con mucho más frecuencia que los mellizos. En otras palabras, los gemelos (que compartían los mismos genes) mostraron patrones de peso mucho más similares que los mellizos que no compartían el mismo ADN.

2.1.8 Factores ambientales

El entorno de una persona (en el hogar, el trabajo, la escuela, en los juegos, en la comunidad, etc.) puede tener un impacto significativo en el riesgo de desarrollar obesidad. Su “entorno” en este sentido abarcaría: El tipo de alimentos disponibles para esa persona, la cantidad de alimentos a su alcance, el nivel de actividad física realizado. Las personas pueden tomar decisiones sobre la salud en base a su entorno. Por ejemplo, alguien puede elegir ir a caminando a determinados lugares debido al trazado concebido para los

automóviles de la comunidad en la que vive. A otra persona puede resultarle muy difícil resistirse al almuerzo poco saludable que le ofrecen en su oficina. Y por supuesto, los niños no tienen mucho control sobre su entorno; sus opciones de alimentos generalmente están determinadas por sus padres.

Que tanto influye la dieta y el ejercicio en este tipo de pacientes, no hay suficientes estudios que avalen la hipótesis por lo que se requiere de más estudios con población mexicana para saber más del componente genético, así como del estilo de vida y el alcance económico. También es necesaria la información de cual sería la manera más correcta de alimentarse y de esta manera evitar la obesidad de manera preventiva y no tener que solucionarlo cuando ya se presento la enfermedad, lo que hace suponer que en los centros de trabajo federales se podría estimular a los trabajadores con medidas preventivas como un programa de ejercicio de cuando menos 30 minutos dentro de su jornada de trabajo diaria, de esta manera el gobierno formularía probablemente un ahorro de millones de pesos que podrían ser destinados a otro tipo de programas y a la vez tener una población más sana. ^(7, 8, 9)

Otro aspecto que también se involucra en la obesidad y que activa una serie de citocinas pro e inflamatorias es la inflamación y los genes involucrados que se estudiaron en esta trabajo se menciona a continuación que se asocian a obesidad y que se somete al paciente a un estímulo de ejercicio físico.

INFLAMACIÓN

El tejido adiposo blanco no solo es considerado como un tejido que almacena energía principalmente pero este emerge como un participante activo en la regulación fisiológica y procesos patológicos, incluyendo la inmunidad y la inflamación. Los macrófagos son

componentes del tejido adiposo y participan activamente en este tejido, posteriormente el intercambio de información entre linfocitos y adipocitos pueden conducir a una regulación inmune. El tejido adiposo produce y libera gran variedad de factores pro inflamatorio y antiinflamatorio incluyendo leptina, adiponectina, resistina y visfantin así también citocinas características como TNF α e IL-6 y otras. Las moléculas pro inflamatorias producidas por el tejido adiposo han sido implicadas como participantes activos en el desarrollo de resistencia a la insulina y el incremento al riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares asociadas con obesidad. En contraste se reduce drásticamente los niveles de leptina, predispone al incremento de causar infección por reducción de respuesta de las células T en individuos desnutridos. Los niveles de adipocitocinas alterados han sido observados en una gran variedad de condiciones inflamatorias aunque el papel patogénico no ha sido completamente aclarado. La presencia de inflamación sistémica ha sido asociada al incremento de enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2 en obesidad, particularmente en el caso de obesidad visceral. Particularmente este estado esta asociado con inflamación crónica de bajo grado como se muestra por el incremento de niveles en marcadores inflamatorios como proteína C reactiva (PCR) e IL-6 en circulación de personas obesas, aunque no esta completamente demostrado se trabaja en la hipótesis que las adipocinas, citocinas y otros factores son producidos y liberados por WAT son responsabilidad del estado inflamatorio con obesidad visceral.⁷²

EFFECTO DEL EJERCICIO SOBRE LEPTINA EN OBESIDAD

En Muchas de la investigaciones que se han realizado sobre el efecto que ejerce el ejercicio sobre la leptina, existen varias razones del porque la leptina responde al ejercicio y que podría tener efectos secundarios, se sabe que el ejercicio reduce en la obesidad la masa

grasa, si los niveles de leptina son afectados esto podría tener una explicación de los efectos del ejercicio sobre la obesidad, el ejercicio específicamente el gasto calórico conduce a un inbalance energético con el que puede llevar a una disfunción reproductiva y por que la leptina está asociada con la función reproductiva, el ejercicio induce alteraciones en la leptina como lo puede explicar el mecanismo y el efecto del ejercicio en la reproducción como una condición característica esta la amenorrea, y el ejercicio altera las concentraciones de ciertas hormonas que pueden alterar las concentraciones de leptina, incluyendo la insulina, cortisol catecolaminas, estrógenos, testosterona, DHEA y hormona del crecimiento. En las mujeres se expresa más leptina en tejido subcutáneo que en el tejido adiposo visceral comparado con los hombres, pues las mujeres tienen más tejido subcutáneo.

El ejercicio y leptina, depende del tipo de ejercicio si es intenso y de tiempo prolongado (> 60 minutos) o de tiempo corto (< 60 minutos). El estudio en periodos cortos de ejercicio sobre leptina han mostrado cambios pero no en las concentraciones de leptina, el reporte de la disminución en la concentración de leptina en mujeres de edad 18-55 años después de una prueba de esfuerzo, en la que los cambios mostrados sugieren que la disminución puede estar asociada con la producción elevada de ácidos grasos mono insaturados durante el ejercicio el cual previamente fue demostrado por tener una correlación inversamente proporcional con los niveles de leptina. Los estudios han demostrado que 30 minutos de ejercicio a VO_{2max} esta asociado con la reducción en las concentraciones de leptina en mujeres post menopáusicas con terapia de remplazo hormonal pero la reducción durante el ritmo circadiano de leptina como se determino en el control de prueba de algunas mujeres. La hormona de crecimiento y cortisol, ambas hormonas afectan la concentración de la leptina, se incrementa en las mujeres en respuesta al ejercicio, es posible que bajo ciertas

condiciones de ejercicio las hormonas que estimulan la expresión de leptina (ejemplo cortisol) es contrarrestado por hormonas que inhiben la secreción de leptina (ejemplo epinefrina). Hay reportes en los que la reducción rápida en la concentraciones de leptina en mujeres de edad promedio 29 años pero no en mujeres con edad media de 27 años después de un ejercicio aeróbico 4 días a la semana de 30-45 minutos al día por 12 semanas. Los niveles bajos de leptina en las mujeres ocurre en la ausencia de alteraciones significantes en la masa grasa y el resultado sugiere que el ejercicio tiene fantásticos efectos en los niveles de circulación de leptina más que en los hombres.

2.2.1 LEPTINA

La leptina es una hormona peptídica producida principalmente por el tejido adiposo blanco y está implicada en el control de la ingesta alimentaria y en el gasto energético, actúa en las células neuronales del hipotálamo y en el sistema nervioso central (SNC). Además, estudios recientes muestran que la leptina regula diferentes vías endocrinas con acciones centrales y periféricas. Se sintetiza en el epitelio gástrico, la glándula mamaria y la placenta ⁽¹⁰⁾, posee una estructura semejante a las de las citocinas y tiene su pico de liberación durante la noche y las primeras horas de la mañana ⁽¹¹⁾ y tiene una vida media plasmática de 30 minutos ⁽¹²⁾. Se han descrito seis formas proteicas diferentes del receptor leptina denominadas Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Re y Ob-Rf ^(13, 14, 15, 16) que tienen en común un dominio extracelular de 800 aminoácidos, un dominio transmembrana de 34 aminoácidos y un dominio variable intracelular característico para cada isoforma. Estas isoformas se pueden dividir en tres clases: cortas, largas y secretadas ⁽¹⁷⁾. La forma Ob-Rb es la que se expresa predominantemente en las neuronas del ARC y de acuerdo con la

mayoría de los estudios realizados, es la principal responsable de la transducción de la señal de la leptina en esta región anatómica ⁽¹³⁾. Como otros miembros de la familia de los receptores de las clase 1 de las citocinas, el Ob-Rb (Así como el resto de Ob-R) no posee una actividad catalítica intrínseca y esta constitutivamente ligada a una proteína citosólica con actividad tirosincinasa, denominada Janus cinasa (JAK-2). ⁽¹⁸⁾

Ob-Ra y Ob-Rc se expresan ampliamente en el plexo coroideo y en los microvasos, donde actúan en la captación de la leptina así como en el transporte a través de la barrera hematoencefálica ^(19, 20). La isoforma Ob-Re carece de dominio intracelular y puede codificar un receptor soluble, se presenta mediante un producto de corte y empalme alternativo o de clivaje proteolítico ⁽¹⁵⁾. En ratones se ha descrito que cuando la Ob-Re se produce en grandes cantidades, actúa como un sistema tampón, captando la leptina que esta libre en la circulación ⁽²¹⁾. Se ha demostrado que la Ob-R soluble es el principal conector de la leptina en actividad en la sangre humana ⁽²²⁾ y que este hecho puede estar determinado por el sexo, la adiposidad y la administración de la leptina ⁽²³⁾. En principio las acciones directas de la leptina se describen solo en SNC. Sin embargo, se ha observado que la distribución de Ob-Ra y Ob-Rb se reflejan en la multiplicidad de efectos biológicos en tejidos extra neuronales, lo que sugiere evidencias sobre las diferentes funciones pleotropicas de la leptina ⁽¹⁷⁾.

La conexión de la leptina con su receptor promueve la captación de otra unidad de receptor que se encuentra adyacente. ⁽²⁴⁾ La modificación conformacional inducida por la unión de la leptina y por la dimerización de los receptores induce la actividad catalítica de la enzima JAK-2 asociada, que se autofosforila en varios residuos de tirosina, volviéndose activa , y

así, a continuación, fosforilar y activar otra molécula de JAK-2 ligada a un segundo receptor⁽¹³⁾. En consecuencia, las JAK-2 activas catalizan la fosforilación de los receptores Ob-Rb en las tirosinas 985 y 1138⁽²⁵⁾. De esta manera se crean tres sitios activos que darán continuidad a la señal de la leptina. El primer sitio promueve el reclutamiento y la fosforilación de la familia de sustratos del receptor de la insulina (IRS).⁽²⁶⁾

La comprensión del mecanismo molecular de la acción de la leptina en el hipotálamo proporciona grandes avances en ese campo pero más tarde las investigaciones realizadas demostraron que la transducción de la señal de esta hormona sufre un control importante mediante vías paralelas de señalización celular, resultando que, hasta el momento, la insulina destaca como la principal moduladora de la señal de leptina^(27, 28). Así pues la comprensión de los efectos de la leptina sobre el control hipotalámico del hambre y la termogénesis requiere también el entendimiento de las acciones de la insulina en este lugar anatómico. Se sabe que la actividad física de intensidad moderada y alta, altera de manera acentuada el balance energético en ratas. En estudios anteriores con animales, los programas de ejercicio de moderado a intenso contribuyen a la reducción de peso corporal y así retrasan el acumulo energético en forma de tejido adiposo^(29, 30, 32). No se conocen por completo las causas exactas que llevan a la supresión del apetito mediadas por el ejercicio, pero se sospecha que el ejercicio puede actuar en diversas regiones del cerebro y en diferentes neuropeptidos. Kotz⁽³¹⁾ menciona que el estímulo o lesión de la LH provoca alteraciones en el comportamiento alimentario y en la actividad física diaria voluntaria, lo que conduce al entendimiento de una posible integración de estos dos sistemas compartamentales.⁽³³⁾

Como vemos en la figura 2 el circuito de la leptina se lleva a cabo en el tejido adiposo y el cerebro en la que intervienen otras moléculas importantes en el control del apetito.

Figura 2

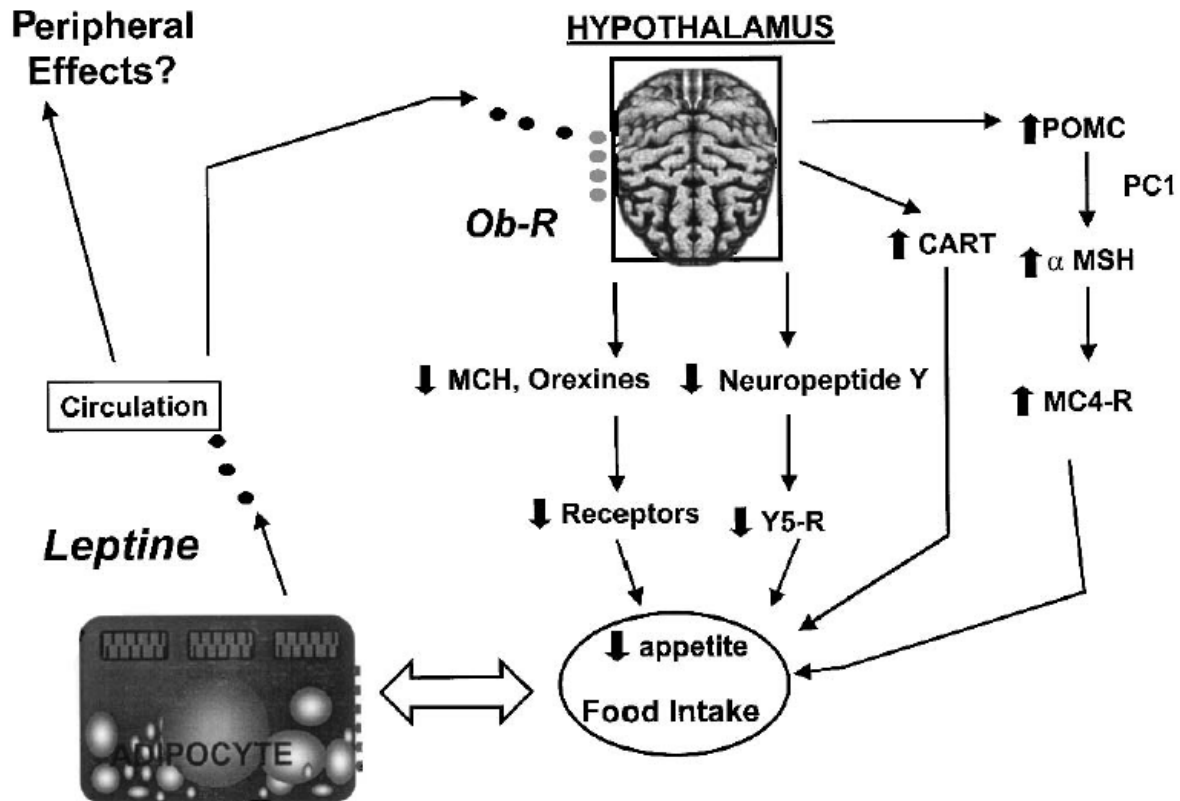


Figura 2

En obesidad se han identificado varios genes entre ellos: Leptina, Receptor de Leptina, Receptor 4 de melanocortina (MCR4), Pro-opiomelanocortina (POMC) y proconvertasa (de la PC1 a la PC9). De forma significativa todas estas proteínas son codificadas por estos 5 genes como parte de la ruta de regulación de ingesta. La leptina (gen ob) codifica para una hormona sintetizada y secretada por adipocitos en proporción al contenido de grasa, en el hipotálamo la leptina se une a su receptor (gen db) y en relación a la cantidad su efecto es potenciado por la expresión del gen POMC. La enzima PC1 se ancla a POMC y esta continúa con la acción de la ACTH y la α melanocito-estimulante de hormona (α -MSH), la

cual reduce la ingesta de alimento cuando esta se une finalmente a una forma específica de MC4R en el cerebro. El hecho de que haya mutaciones de los genes involucrados en otras rutas de regulación potenciales de la ingesta calórica sugiere que la ruta de señalización de la leptina puede ser primaria en la regulación del balance energético en los humanos.

(Phillippe Froguel et al 2001)

2.2.2 Factores que producen variación en los niveles de leptina sérica

La determinación de la leptina en el laboratorio puede realizarse por radioinmunoanálisis específico o por ensayo inmunoenzimático (ELISA). Los niveles séricos de leptina en personas con normo peso oscilan en el rango de 1 a 15 ng/ml, en cambio en individuos con IMC superior a 30 se pueden encontrar valores de 30 ng/ml o incluso superiores. ^(26, 33, 34)

La leptina plasmática se correlaciona positivamente con el índice de masa corporal (IMC) y con el porcentaje de grasa total en humanos y animales. En la población en general existe una gran variación en la concentración de leptina lo que sugiere una modulación multifactorial de su secreción. Otro factor que determina los valores de leptina es el sexo, las mujeres presentan niveles más altos que los hombres, incluso después de ajustar los valores de acuerdo con el IMC, el porcentaje de grasa corporal, el grosor de los pliegues de la piel y la edad. ^{(25, 35).}

2.3.1 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α)

El $\text{TNF}\alpha$ se sabe involucrado en una gran cantidad de estímulos, condicionando generalmente un proceso inmune de tipo inflamatorio, se identificó como un mediador de la necrosis tumoral en el suero de ratones tratados con liposacáridos, produciendo necrosis hemorrágica y completa regresión de tumores trasplantados, también se le ha descrito en muerte de células tumorales *in vivo*. Es producida principalmente por macrófagos pero también por monocitos, linfocitos, tejido adiposo y músculo. El gen $\text{TNF}\alpha$ se encuentra ubicado en el brazo corto del cromosoma 6, formando parte del complejo principal de histocompatibilidad. ^(36,37). Se ha observado que en tejido adiposo de los roedores y de humanos, $\text{TNF}\alpha$ es una citocina producida por las células del sistema inmune y por el tejido adiposo, estimula la expresión de la leptina y este a su vez retroalimenta la producción de $\text{TNF}\alpha$, estimulando también la producción de interleucina 6 (IL6) y la inhibición de $\text{PPAR}\gamma$, que es el regulador de adiponectina, produciendo un aumento en las citocinas proinflamatorias. ⁽³⁶⁾ La primera molécula que se asoció a inflamación y a obesidad fue el ($\text{TNF}\alpha$). El $\text{TNF}\alpha$ y la IL1 son dos de las principales citocinas; sus acciones más importantes en la inflamación se derivan de sus efectos sobre el endotelio, leucocitos y fibroblastos e influyen en la inducción de respuesta sistémica de fase aguda. En el endotelio inducen un espectro de cambios principalmente regulados a nivel de la transcripción de genes, sobre la síntesis de mediadores químicos en los que destaca por su efecto en la resistencia a la insulina. $\text{TNF}\alpha$ es sobre expresado en tejido adiposo en modelos de ratones obesos, es sobre producido en tejido adiposo y en músculo de humanos obesos. En sujetos obesos los niveles en plasma de $\text{TNF}\alpha$, IL6, PCR, PAI1 se encuentran elevados muchos de los mediadores de inflamación, como IL6 exhiben patrones de expresión que impactan en la acción de la insulina de manera similar a $\text{TNF}\alpha$, los adipocitos pueden expresar muchas proteínas de macrófagos como $\text{TNF}\alpha$, IL6 y MMP (metaloproteínasa de matriz) ⁽²³⁾. La

capacidad funcional de estas dos células también se sobrepone, los macrófagos pueden tomar sus reservas de lípidos y llegar a ser células espumosas en la arterioesclerosis. Los macrófagos de tejido adiposo probablemente contribuyen a la producción de mediadores de inflamación de manera aislada o con la cooperación de adipocito.⁽³⁷⁾ Se ha demostrado que los adipocitos secretan grandes cantidades de IL-6 y cantidades nada despreciables de TNF α , de ahí que a los adipocitos se les asocie con inflamación y el desarrollo de obesidad. Sin embargo, no hay que olvidar que los macrófagos junto con los adipocitos son los principales secretores de TNF α .⁽³⁸⁾

2.3.2. TNF α DERIVADA DE TEJIDO ADIPOSO EN ENFERMEDAD METABOLICA

El factor de necrosis tumoral α (TNF α) es una citocina multifuncional que puede regular muchos de los procesos celulares y biológicos característicos como la función inmune, diferenciación celular, proliferación, apoptosis y metabolismo energético. Esta es sintetizada como un monómero transmembrana de 26-kDa (mTNF- α), que bajo el anclaje proteolítico de TNF α , la enzima que transforma a TNF α en una molécula soluble de 17 kDa. Ambos sTNF α y mTNF α pueden responder a efectos biológicos y metabólicos sugiriendo que mTNF α pueden mediar señales autócrinas y parácrinas, conduciendo a sTNF α a mediar efectos endocrinos. Sin embargo, estudios recientes indican que las acciones endocrinas de sTNF α dependen de altos niveles de circulación, los cuales están más propensos a ocurrir en las enfermedades catabólicas en condiciones características como las asociadas a cáncer y sepsis. En contraste los niveles en la diabetes tipo 2 asociada

a obesidad, de mTNF α y sTNF α se incrementan en el tejido adiposo pero con niveles bajos en circulación de sTNF α en enfermedades catabólicas, mientras tanto sTNF α derivada de tejido adiposo exenta de los efectos endocrinos en el sistema de resistencia a la insulina son debatidos. Inicialmente los niveles en circulación casi siempre estaban bajos y algunas veces significativamente no tan altos, en conclusión el tejido adiposo no libera sistemáticamente TNF α . Sin embargo la mejora en sensibilidad y especificidad de los reactivos para detectar, la circulación de TNF α ahora se ha visto que correlaciona con IMC y el deterioro en el procesamiento de TNF α puede mejorar la sensibilidad sistémica a insulina. Sin embargo, la naturaleza difusa del tejido adiposo esta cerradamente asociado con funciones metabólicas relevantes en el tejido como músculo y páncreas sugiriendo que la producción crónica local derivada del tejido adiposo sTNF α podría no ser el blanco del tejido adiposo en obesidad. La confirmación de que la producción de la citocina es en macrófagos y estos están infiltrados en el tejido adiposo de diabéticos obesos para reforzar esta teoría implica la producción de TNF α por macrófagos residentes (ejemplo células de Kupffer) en la regulación fisiológica del metabolismo energético sigue siendo en otros tejidos característicos como el hígado. TNF α derivado de tejido adiposo solo puede afectar indirectamente la homeostasis de la energía sistémica, regulando ambas funciones adiposas y capacidad de expandirse. Es necesario entender el mecanismo de acción de TNF α asociada a obesidad y la desregulación metabólica. La evidencia de que TNF α puede por sí misma impactar en el metabolismo celular en enfermedad catabólica, a principio de los 80s cuando se realizo la primera purificación y se confirma una gran cantidad de toxina y solo la inducción de caquexia por el factor caquetina (TNF $\square$). Recientemente TNF α mostró ser relevante en el metabolismo del tejido adiposo. Inicialmente estudios *in vitro* sugieren que TNF α afecta la homeostasis de la glucosa en el adipocito, promueve la lipólisis en el

cultivo de adipocitos e inhibe potencialmente la diferenciación del adipocito y lipogenesis. Sin embargo, la primera demostración de que $\text{TNF } \alpha$ puede ser relevante en enfermedades metabólicas asociadas con sobre nutrición (características como la obesidad y diabetes tipo 2) fue hecho por Hotamisligil y colegas, quienes mostraron que $\text{TNF } \alpha$ se eleva en el tejido adiposo en roedores diabéticos y obesos y es un mediador de resistencia a insulina relacionado a obesidad y diabetes tipo 2. La evidencia más completa de esta secuencia viene de los estudios que muestran que el bloqueo genético de la acción puede restaurar la sensibilidad a la insulina tanto *in vitro* como *in vivo*. Esta producción de $\text{TNF}\alpha$ abre y contribuye a la patogénesis de roedores obesos con inducción de resistencia a la insulina. Esta evidencia solo podría ser verdadera para los humanos que pudieran tener pérdida de lo establecido por una inconsistente correlación de circulación de $\text{TNF}\alpha$ con obesidad. Adicionalmente varios estudios encontraron que el tratamiento por períodos cortos con anticuerpo anti $\text{TNF}\alpha$ o con sTNFR1-IgG1 o con una quimera fallada de sensibilidad a la insulina en obesos con diabetes tipo 2 o sujetos con obesidad visceral. Un problema con la interpretación se esos resultados negativos encontrados con la dificultad de encontrar la actividad local de $\text{TNF}\alpha$ (ambos $\text{mTNF}\alpha$ y $\text{sTNF}\alpha$) está completamente neutralizado por un tratamiento agudo. Ello solo contrasta con reportes recientes encontrados con tratamientos crónicos con anticuerpos anti $\text{TNF}\alpha$ y mejorar la sensibilidad a la insulina en pacientes obesos. Por lo tanto la evidencia sugiere que la obesidad humana promueve estados crónicos con inflamación de bajo grado que contribuye a resistencia a la insulina y a diabetes tipo 2. Tomando junto $\text{TNF}\alpha$ y su mecanismo de acción sirve como un blanco terapéutico para el tratamiento de enfermedades asociadas con inflamación crónica, discapacidad en tolerancia a la glucosa y dislipidemia.

Cuál es la fuente sTNF α derivada del tejido adiposo

La mayoría del volumen del tejido adiposo está compuesto de adipocitos conteniendo gotas de grasa y los adipocitos pueden ser aislados y diferenciados por producción de TNF α . Podemos asumir que los adipocitos son la fuente principal de TNF α y su elevación en tejido adiposo de obesos. Sin embargo, el tejido adiposo solo contiene tiene una fracción significativa extravascular (SVF) el cual contiene numerosos tipos celulares metabólicamente relevantes. Ello incluye pre adipocitos, células endoteliales, células de músculo liso, fibroblastos, leucocitos y macrófagos y recientemente los estudios han demostrado que las células SVF pueden producir sustancialmente más TNF α que los adipocitos. La obesidad está asociada a un incremento en la infiltración de macrófagos en tejido adiposo y por esto parecería que los macrófagos de tejidos adiposo (ATMs) son predominantemente responsables de la producción elevada de TNF α durante la obesidad. Por lo tanto en modelos recientes de ratones han demostrado que ambos contratan la activación clásica de ATMs se requieren para el desarrollo de resistencia a la insulina que está asociada con obesidad. Un estudio reciente reportó que aunque el TNF α derivado de macrófagos puede dañar la sensibilidad a la insulina en ratones KO de TNF α , la ausencia de TNF α en macrófagos no solo protege de inicio a los ratones silvestres (wild type) que desarrollan resistencia a la insulina relacionada a obesidad, una relativa contribución de TNF α de los macrófagos y no macrófagos que inducen resistencia a la insulina sin entenderse completamente.

2.3.4 Que es lo que induce la expresión de TNF α en tejido adiposo

La regulación de la transcripción del gen de TNF α claramente es de tipo celular específico, sin embargo la gran mayoría de producción de TNF α viene de la activación clásica de macrófagos, hay mucho interés de enfocarse a identificar el blanco inicial que estimula estimulación y activación de las células inmunes en tejido adiposo. La hipótesis de que la muerte del adipocito se incremente y se expanda en el tejido adiposo puede inducir señales quimioatrayentes que dañan a monocitos. Tanto en ratones y humanos la obesidad está asociada con un incremento en el número de adipocitos apoptóticos y necróticos en tejido adiposo blanco y marrón (WAT y BAT, respectivamente) y un estudio encontró que la mayoría de macrófagos en tejido adiposo blanco de ratones y humanos obesos están localizados en la muerte de adipocitos. Que la obesidad está asociada con el incremento en la muerte de adipocitos, esto consiste con la noción de que tejido adiposo puede tener una capacidad limitada para la expansión que se investiga durante la sobre nutrición crónica. Sin embargo, la secreción de citocinas solo pueden estimular posteriormente la producción de citocinas y promueve apoptosis de células blancas esto aparentemente no ocurre lo cual es causa o consecuencia.

Por lo tanto no está clara la función inmune relacionada con estado nutricional y esta puede estar asociada a una dieta en ácidos grasos la que puede alterar la producción de citocinas. Esta podría tener señalización alternativa pero no excluye mutuamente la posibilidad de que los componentes de la dieta en particular grasas específicas puedan tener un papel significativo en la regulación del perfil inflamatorio del tejido adiposo, por lo que la dieta conduce a un estado de obesidad.

Con respecto a la producción de específica de $\text{TNF}\alpha$, los niveles de esta citocina son conocidos y regulados nutricionalmente pero es importante por ser potenciado por la hiperinsulinemia, sin embargo esto no está claro mientras que la producción elevada de $\text{TNF}\alpha$ relacionada a obesidad ocurre secundariamente a diabetes por hiperinsulinemia. Por lo tanto la acción de citocina *in vivo* resulta en una compleja interpretación entre las redes de citocinas pro anti inflamatorias. Por lo tanto aparece como una regulación coordinada de citocinas anti inflamatorias características como IL-10 que puede jugar un papel en la producción y acción *in vivo* de $\text{TNF}\alpha$.

2.2.5 Mecanismos moleculares de acción de $\text{TNF}\alpha$ en adipocitos

$\text{TNF}\alpha$ media sus efectos biológicos en tejido adiposo por dos diferentes receptores de la superficie celular, receptor del factor de necrosis tumoral alfa 1 (TNFR1) (Peptido de 55-60 kDa tanto en roedores como humanos respectivamente) y receptor del factor de necrosis tumoral alfa 2 (TNFR2)(Péptido de 75-80 kDa tanto en roedores como humanos respectivamente). Ambos receptores son ubiquitinizados expresando glicoproteínas transmembrana que trimerizan sobre los ligando de unión, para $\text{TNF}\alpha$ ambos receptores pueden ser proteolíticamente anclados para liberar la formas solubles (sTNFR). Este puede estar involucrado en la neutralización y excreción de $\text{TNF}\alpha$ y por lo tanto puede modular la actividad de $\text{TNF}\alpha$ temporalmente y espacialmente. Los receptores solubles solo pueden ser más accesibles a biomarcadores por elevación en la actividad de $\text{TNF}\alpha$. Los niveles de circulación de ambos receptores solubles TNFRs pueden ser regulados nutricionalmente y se ha reportado el incremento de ambos en adultos obesos y no obesos con perfil de lípidos

pro-aterogenicos. Aunque TNFR1 Y TNFR2 son muy parecidos en ligando de unión en los dominios extracelular, sus dominios intracelulares exhibe una secuencia no homologa y ello activa diferentes vías de señalización. Las diversas investigaciones sugieren que las señales transmitidas por TNFR1 median la mayoría de los efectos y función de TNF α en tejido adiposo. TNF α humana y murina es equivalentemente efectiva a la impuesta por señalización de insulina en adipocitos murinos. Esto sugiere que la señal transmitida vía TNFR1 es suficiente para este efecto por que el TNF α humano solo puede activar TNFR1 murino, pero no TNFR2, significativamente mejora la sensibilidad a la insulina en ratones ob/ob y cultivo de adipocitos. Finalmente los estudios que usan pre adipocitos deficientes de TNFR1 y TNFR2 muestran que este receptor TNFR1 se requiere para la inhibición de adipogenesis por ambos receptores de TNF α solubles transmembrana. TNF α modula la función del tejido adiposo predominantemente por TNFR1. Mientras tanto otros estudios sugieren que TNF α solo puede mediar algunos efectos en el canal de adipocitos TNFR2. Sin embargo el conocimiento del papel exacto de TNFR1 sobre TNF α mediante el tejido adiposo está limitada. En contraste muchas de la vías de señalización activadas vía TNFR1 han sido implicadas en la mediación de acciones de TNF α en tejido adiposo. En la figura (2) se muestra los diferentes aspectos de la biología específicamente del adipocito. TNFR tiene actividad catalítica intrínseca, instantáneamente puede transmitir señales por reclutamiento de proteínas adaptadoras, las cuales interactúan con distintos dominios de las porciones citoplasmáticas de los receptores activados específicamente bajo la señalización, por ejemplo, varios complejos adaptadores son reclutados para la muerte trimerica del dominio de TNFR1 (TNFR1-DD), el cual ha sido implicado en la mediación de muchos de los efectos de TNF α en la biología del adipocito. Como su nombre lo indica que TNFR1-DD es responsable de señales cito toxicas inducidas por TNF α , sin embargo como con

muchas de las acciones de $\text{TNF}\alpha$ que pueden ser de tipo celular específicas, aunque los pre adipocitos son más sensibles a la muerte celular inducida por $\text{TNF}\alpha$, $\text{TNF}\alpha$ solo puede inducir apoptosis en adipocitos. Esto se requiere para ser mediado por TNFR1 , por lo menos en adipocitos marrones. El TNFR1-DD solo puede activar rutas de señalización vía celular y pro inflamatorias que conducen a la activación de factor nuclear kappa B ($\text{NF}\kappa\text{B}$) y la cascada de proteína cinasa activación mitogena (MAPK) característica de esta involucración extracelular de la señal cinasa proteína activada (ERK), p38, MAPK y c-Jun cinasa N terminal (JNK), esas rutas de señalización han sido reportadas por ser activadas por $\text{TNF}\alpha$ en tejido adiposo y siendo un buen candidato para mediar la desregulación metabólica, sin embargo TNFR1 y su DD pueden activar un número adicional de rutas de señalización con relevancia metabólica en la biología del adipocito característico como el ácido esfingomielinasa (aSMase), factor nuclear de actividad de células T (NFAT), proteína cinasa A (PKA), CREB, proteína cinasa C (PKC), PI3K y liberación de calcio. Sin embargo los eventos del receptor proximal conducen a ese remanente para ser completamente elucidado, como lo hace el mecanismo que facilita sostenimiento de señalización inducida de $\text{TNF}\alpha$.

Papel de $\text{TNF}\alpha$ en obesidad-asociada a estrés de retículo endoplasmico, disfunción mitocondrial estrés oxidativo. Como veremos en la siguiente figura la interacción de $\text{TNF}\alpha$ y otras moléculas que intervienen en la ruta de señalización y que pueden tener rutas alternas dependiendo de quién inicie la cascada de señalización figura 3.

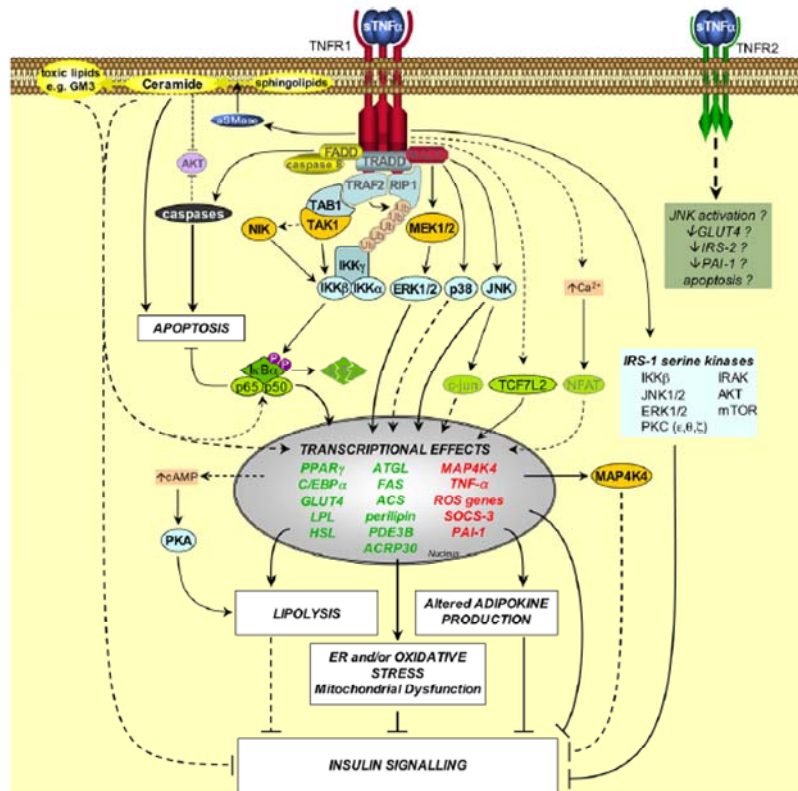


Figura 3. Rutas de señalización inducidas por TNF α en tejido adiposo sobre la activación de moléculas adaptadoras a TNFR1 como TRADD que interactúa con TNFR1-DD las moléculas adaptadoras río abajo características como Fas-asociado al dominio de proteína que conduce a la muerte como (FADD), TNFR-asociado al factor 2 (TRAF2), Receptor-proteína interactúa 1 (RIP1) y proteína cinasa activada mitógena (MAPK) activación del dominio de la proteína muerte (MADD), estos adaptadores entonces median la activación de diversas rutas de señalización río abajo. TNF α activa varios MAPK en adipocitos incluyendo a ERK1/2, p38 MAPK y JNK posiblemente vía adaptador MADD. ERK 1/2 y JNK puede cada una regular la transcripción por supresión de actividad de PPAR γ . JNK puede también tener efectos transcripcionales efectos vía c-jun. JNK, ERK 1/2, IKK β y otras cinasa también han sido implicadas en la inducción de fosforilación de serina en TNF α de IRS-1, la cual suprime la señalización de insulina. Otros efectos de TNF α pueden activar a PKA (proteína cinasa A) para incrementar los niveles de cAMP, posiblemente efectos vía transcripcionales. TNF α puede activar el factor de transcripción NFAT vía Ca²⁺ sin embargo esto no ha sido establecido en los adipocitos, en pre adipocitos TNF α puede estimular la transcripción por TCF7L2 (factor de transcripción 7-parecido al 2). Los efectos

transcripcionales de $\text{TNF}\alpha$ promueve stress en ER, el stress oxidativo y la disfunción mitocondrial, lipolisis y expresión alterada de adipocinas por lo tanto la señalización de la insulina se compromete y el metabolismo de lípidos en adipocitos. ⁽³⁸⁾

La obesidad relacionada a resistencia a insulina recientemente ha sido ligada a estrés oxidativo y disfunción de orgánulos, ejemplo disfunción mitocondrial y de retículo endoplásmico (ER), esas son las características que pueden estar inducidas por $\text{TNF}\alpha$ y la cual ha sido ligada a la activación de las rutas de JNK o NFkB. Esto sugiere que la producción de especies reactivas (ROS), contribuyen a la activación de ambos $\text{TNF}\alpha$ y NFkB y la resistencia a la insulina inducida por $\text{TNF}\alpha$. Adicionalmente el estrés oxidativo puede promover el incremento en la producción de $\text{TNF}\alpha$ bajo condiciones metabólicas adversas. Interesantemente la sobre regulación $\text{TNF}\alpha$ en el tejido adiposo y la expresión de muchos genes que codifican proteínas involucradas en respuesta al estrés oxidativo. Por lo tanto la expresión de genes bajo la regulación de $\text{TNF}\alpha$ que codifican componentes de cadena transportadoras de electrones y pueden por lo tanto inducir disfunción mitocondrial. Recientemente se ha mostrado que $\text{TNF}\alpha$ inhibe la diferenciación de adipocitos humanos por la oxidación de ácidos libres. Como se representa en la figura 4 la resistencia a la insulina y su ruta de señalización.

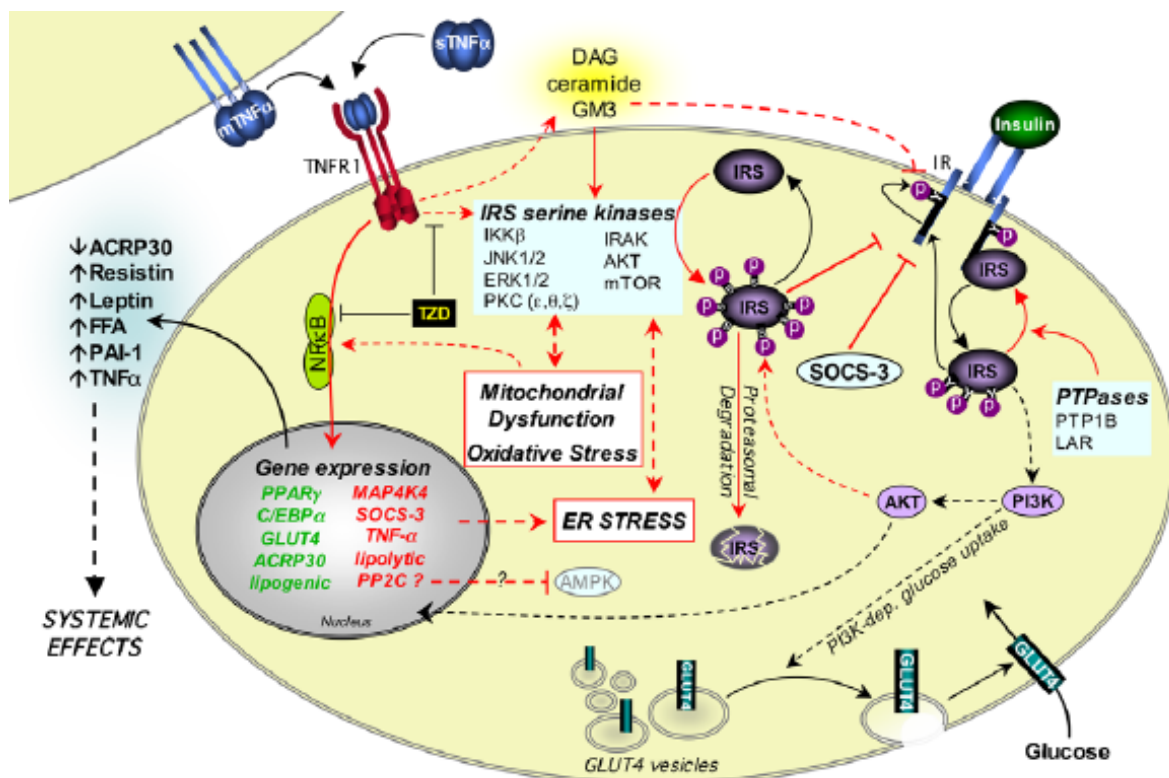


Figura 4. Mecanismos que inducen resistencia a la insulina mediado por $\text{TNF}\alpha$ en tejido adiposo. Efectos metabólicos mediados por insulina uniéndose a su receptor de insulina (IR). La IR tiene actividad intrínseca de tirosina cinasa y la unión de insulina promueve autofosforilación de la IR es la clave de tirosina intracelular. Este a continuación recluta al sustrato de receptor de insulina (IRS) característico como IRS-1. IR- se une a IRS las proteínas son por si mismas fosforiladas en residuo tirosina continuando con la activación en la ruta de señalización característico como fosfoinositol 3-cinasa (PI3K) y AKT. Ejerce sus efectos río abajo característicos como la translocación de GLUT4 para almacenaje intracelular en vesículas en la membrana plasmática. La proteína tirosina fosfatasa (PTPases) pueden abrogar la próxima señalización de IR, $\text{TNF}\alpha$ también puede dañar la señalización próxima IR, aunque la activación de IRS serina cinasa y la producción de lípidos tóxicos como se describe en la figura. Más tarde $\text{TNF}\alpha$ compromete la acción de la insulina aunque los efectos transcripcionales posiblemente median la activación vía NF κ B. Eso causa bajo regulación de componentes requeridos para la respuesta de insulina y sobre regulación de factores que pueden posteriormente dañar a ambos tanto local como sistémica de sensibilidad a insulina, características como SOCS3. Los efectos transcripcionales

pueden promover stress celular que pueden dañar la señalización de insulina. Thiazolidinediones (TZD) daña a la resistencia de insulina inducción $\text{TNF}\alpha$. Las flechas negras indican los efectos que promueve la señalización de insulina, las flechas rojas indican los efectos antagonistas de la señalización de insulina. ⁽³⁸⁾

2.3.6 $\text{TNF}\alpha$ y endocrinología del adipocito

El tejido adiposo es reconocido como un tejido endocrino que secreta muchos productos que pueden impactar en numerosos aspectos de la biología del organismo, incluyendo homeostasis energética, función inmune y reproducción. Varias de esas proteínas secretadas derivadas del tejido adiposo denominado adipocinas solo están involucradas en complicaciones metabólicas relacionadas a obesidad. Interesantemente la acción de $\text{TNF}\alpha$ en tejido adiposo puede alterar la producción de muchas adipocinas y esto es relevante para los efectos sistémicos de $\text{TNF}\alpha$ en sensibilidad a insulina y la homeostasis de la energía corporal.

2.3.7 $\text{TNF}\alpha$ y el metabolismo lipidica del adipocito

Uno de los aspectos a distinguir del adipocito es su capacidad de almacenamiento (lipogénesis), liberación (lipólisis y o termogénesis) y distribuir la energía apropiadamente. Desde su propia función el adipocito juega un papel importante en la regulación del metabolismo de lípidos corporales. Esas funciones pueden ser reguladas por numerosos estímulos extracelulares, característicos como la insulina, cortisol, catecolaminas, hormona del crecimiento, testosterona, ácidos grasos libres y citocinas. La acción de $\text{TNF}\alpha$ en adipocitos puede directamente alterar el metabolismo de los lípidos por lo tanto la

inhibición de ácidos grasos libres captados y lipogénesis de la estimulación de la liberación de ácidos grasos libres vía lipólisis. De esta manera TNF α derivado de tejido adiposo puede contribuir al desarrollo de dislipidemia y resultan en complicaciones metabólicas.

2.3.8 TNF α y diferenciación del adipocito

En consecuencia para estos efectos en el metabolismo de los lípidos en el adipocito maduro, TNF α puede perjudicar la capacidad de almacenaje de los lípidos de tejido adiposo por supresión en el reclutamiento y diferenciación de nuevos adipocitos y nuevas células precursoras. La regulación transcripcional y diferenciación del adipocito ha sido extensamente estudiada por lo menos en *in vitro*. En breve la adipogénesis es llevada por una cascada transcripcional la cual es caracterizada por una temprana expresión de C/EBP β y C/EBP δ . Esta precede la inducción de C/EBP α y PPAR γ , el regulador maestro de adipogénesis, TNF α inhibe adipogénesis y previene la inducción de PPAR γ y la expresión de C/EBP α , por lo tanto solo previene la inducción de genes que son responsables de la maduración fenotípica del adipocito.

2.3.9 Blancos transcripcionales de TNF α en el adipocito

Aunque TNF α no previene la expresión temprana de C/EBP β ó C/EBP δ , este parece que inhibe a PPAR γ mediante la expresión de PPAR α y C/EBP α , está es una propuesta para que medie la vía de cascada cinasa TAK1/TAB1/NIK, para activar a p65/RelA subunidad de NF κ B la cual actúa como secuestrador y previene la función compleja PGC/PPAR γ .

Curiosamente esto no está claro mientras este es un blanco primario de TNF α en pre adipocitos, como esas células tienen muy bajos niveles de la proteína PPAR α (comparada con el adipocito maduro) y los niveles basales del transcritto PPAR α no son desreguladas durante la inducción de TNF α anti-adipogenesis. Por lo tanto el tratamiento con TZD pueden antagonizar la inducción de TNF α anti-adipogenesis, confirmando que la función de PPAR α es un factor importante. Adicionalmente MAP4K4 ha sido propuesta como un regulador negativo en la adipogénesis y su expresión puede estar inducida por TNF α (por lo menos en adipocitos), sin embargo, el papel y mecanismo de acción en TNF α induce anti-adipogenesis en pre adipocitos. Otro regulador negativo de adipogenesis que actúa tempranamente y suprime la expresión de PPAR α y C/EBP α es Wnt10b. Este es un factor fisiológico importante involucrado en linaje concomitante y determinación. La ruta canónica e señalización de Wnt regula la expresión de genes blanco de Wnt vía estabilización de β -catenina un coactivador de factor de células T (TCF) una familia de factores de transcripción. La activación de estas rutas ha demostrado que inhiben la expresión de PPAR α y la acumulación de lípidos en ambos *in vivo* e *in vitro*.

2.3.10 TNF α , tejido adiposo marrón y termogénesis.

Mientras que el tejido adiposo blanco (WAT) es primeramente responsable de almacenamiento y liberación de energía y generación de señales endocrinas, el tejido adiposo marrón (BAT) especializado en gasto energético vía β -oxidación que es acoplado para la termogénesis. La capacidad termo génica de BAT es un importante factor que contribuye al desarrollo de obesidad asociada a desregulación metabólica. La obesidad está asociada con reducción termo genéticamente de BAT y en ratones transgénicos donde no

hay BAT llegan a ser obesos. Controversialmente la expresión de UCP1 en BAT está asociada con la protección agonista de síndrome metabólico en ratones. Numerosos estudios sugieren que TNF α puede modular la capacidad termo génica de BAT, sin embargo esos estudios hasta ahora resultan confusos, por ejemplo, algunos reportes sugieren que la administración de TNF α incrementa la actividad termo génica de BAT posiblemente por sobre regulación en la expresión de UCP. Esto es consistentemente con el papel de TNF α mediante el incremento de gasto energético en estado catabólico. Sin embargo, TNF α puede mediar esos efectos por el SNC per se BAT, en contraste algunos estudios sugieren que TNF α deteriora la termogénesis BAT vía bajo regulación de expresión de UCP-1 y β 3-AR, esas discrepancias pueden resultar en diferencias de los modelos usados. Por lo tanto una completa evidencia para el papel de TNF α en alteraciones asociadas a obesidad en la termogénesis de BAT viene en estudios con ratones obesos en la función de TNF α . La obesidad asociada a la disminución de la expresión de UCP-1 y β 3-AR es atenuada en esos ratones. ⁽³⁹⁾

2.4.1 Metaloproteinasa (MMP9)

En la obesidad, enfermedad caracterizada por exceso de tejido adiposo. La masa del tejido adiposo se ve reflejada en el número de adipocitos y en la cantidad de grasa acumulada. El desarrollo de la obesidad está asociada con procesos celulares coordinados incluyéndola hipertrofia del adipocito segundo por la inflamación, los precursores de adipocitos y la nueva grasa en la diferenciación celular. Esos procesos son acompañados por la

neovascularización que es esencial para la generación y la función propia de ese tejido. Esto es generalmente aceptado, que la relación de los múltiples eventos incluyendo los cambios dinámicos de las interacciones matriz- celular y la extensa remodelación de la matriz extracelular y en esas modificaciones de los activadores proteolíticos dentro del medio ambiente de tejido adiposo, ocurriendo durante el desarrollo y almacenamiento de grasa. Numerosos estudios han examinado la regulación y los eventos intracelulares que ocurren durante la adipogénesis, y la información es limitada sobre los mecanismos moleculares no claros sobre la remodelación de la matriz extracelular, los eventos proteolíticos y las interacciones célula-matriz durante la obesidad relacionada con el desarrollo de masa grasa. En la siguiente figura 5 MMP y su posible cascada de señalización

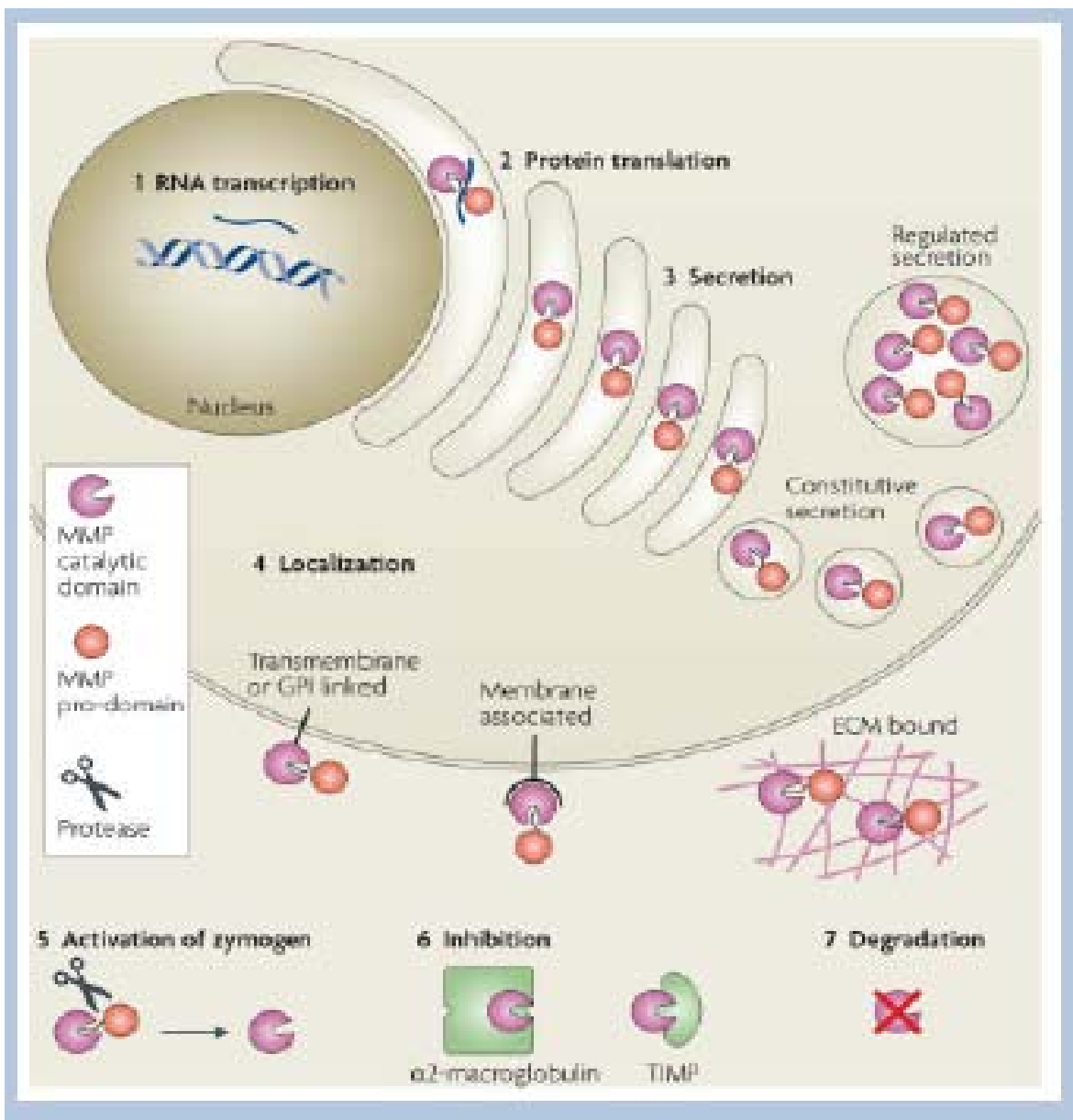


Figura 5. En un ensayo sencillo para ver los niveles de presencia o ausencia de metaloproteinasas de matrix, los transcritos de RNA (MMP) ó la actividad enzimática. Sin embargo la función de MMP puede estar regulada a muchos niveles. En consecuencia (1) el transcrito de RNA (2) síntesis de proteína, La función de MMP puede estar regulada en niveles de secreción (3), trafico intracelular, (4) localización extracelular y subcelular, (5) activación en forma de zimogeno. (6) expresión de otras proteínas endógenas inhibitorias tales como inhibitorias del tejido metalloproteinasas (TIMPs) y $\alpha 2$ -macroglobulina, y (7) degradación de proteasa. Sólo el sustrato viable y accesible determina el grado con el cual la actividad de MMP es utilizada. Este complejo regulatorio ha hecho especialmente difícil

a detalle el tiempo y el espacio de la actividad de MMP, y referirse a ellas. Un ejemplo específico de la regulación de la actividad de MMP13. ECM, Matrix extracelular; GPI glucosilfosfatidilinositol. ⁽⁴⁰⁾

En el curso de diferenciación, el análisis de expresión de genes entre la matriz y el tejido adiposo, recientemente se identificaron osteonectina/SPARC una proteína involucrada en las interacciones entre la célula y la matriz sobre regulada en la obesidad. Esto sugiere que la alteración en los niveles de expresión de las proteínas de matriz pueden contribuir al desarrollo de obesidad asociado al desarrollo de tejido adiposo. Un enlace entre las actividades opuestas de proteínas y otros inhibidores controlando eventos proteolíticos pericelulares. La cantidad de enzima implicada en la degradación de moléculas de matriz y la generación de factores bioactivos de la familia de metaloproteinasas de matriz (MMP), son consideradas para ser responsables preliminares de esos procesos fisiológicos y patológicos característicos como, desarrollo embrionario, angiogenesis, reparador de herida, ciclo reproductivo y metástasis. En consecuencia y en otra dirección la influencia en la degradación de moléculas de matriz extracelular, las metaloproteinasas no solo han sido implicadas en la generación de moléculas bioactivas. Ellas pueden mediar la realización y o activar factores de crecimiento secuestrados y el anclaje de receptores de adhesión en superficie celular. La actividad de las metaloproteinasas es regulada por los niveles de genes de transcripción, activación de pro enzima y vía de inhibición de otras actividades por inhibidores endógenos, inhibidores de tejido de metaloproteinasas, (TIMPS). El papel de la remodelación de la matriz y de las rutas proteolíticas que ocurren durante la adipogenesis y la formación que tiene de tejido adiposo. ^(37, 38)

La familia de metaloproteinasas de matriz, enzimas que contribuyen a la remodelación de tejido normal y patológico, la MMP9 juega un papel muy importante en las proteínas específicas de musculo y asistiendo la formación de la matriz extracelular, remodelación y regeneración de musculo esquelético y cardiaco. Ciertos estímulos particularmente esos que inducen altos niveles de stress mecánico como ejercicio de alto impacto, activa la producción local de MMPS en músculo esquelético, esto es generalmente aceptado que la función de la MMPs en musculo esquelético y los procesos de la las proteínas de matriz, asistiendo en la degradación y reparación mientras eso se relaciona y facilita la angiogenesis y la circulación.^(38, 39, 40, 41)

Se sabe que la MMPs son un grupo de enzimas extracelulares que degradan matriz y que regulan la composición de la matriz, con funciones esenciales en varios procesos fisiológicos, la metaloproteasa de matriz MMP9 la cual pertenece a la subfamilia de gelatinasa ha sido el foco de atención para la grasa hecha en el que se ha demostrado un papel muy importante en la patología de los dos causa de muerte en los países industrializados, ejemplo la arterioesclerosis y el cáncer. En la arterioesclerosis se ha demostrado que MMP9 es expresada por inflamación de la las células en la superficie de la placa arterioesclerótica, en la que contribuye a la ruptura atreves del debilitamiento proteolítico. Por lo que se cree que las lesiones arterioescleróticas son una fuente muy rica de MMP9, y los niveles elevados en la circulación han mostrado estar asociadas con plaquetas ricas en lípidos, y para predecir los daños y los eventos fatales cardiovasculares. En la progresión del cáncer se sabe que la MMP9 juega un papel en angiogenesis, crecimiento del tumor y metástasis, la circulación de MMP9 ha sido evaluada como un biomarcador de para varios tipos de cáncer y los niveles elevados han sido reportados en

cáncer de pulmón, cabeza y cuello. Desde que MMP9 surgió como un biomarcador promisorio de enfermedad humana y el número de estudios que evalúan este concepto se incrementa rápidamente. Sin embargo los niveles elevados de MMP9 pueden ocurrir por otras enfermedades y no solo por las arriba mencionadas. De ahí que existan datos que indican que el tejido adiposo puede ser una fuente adyacente de MMP9 en circulación. El tejido adiposo tiene la habilidad de producir y excretar MMP9 y puede ser acompañada por pérdida de peso disminuyendo también la circulación de MMP9, en algunos pero no en todos los estudios se ha encontrado asociación positiva entre las mediciones de obesidad y circulación de MMP9, esto quizás se pueda explicar con la modificación en las condiciones propias de cada tipo de paciente relacionas con síndrome metabólico y la inflamación de bajo grado. Por lo que se han dado a la tarea de comparar la expresión de RNAm de MMP9 de tejido adiposo con otros tejidos y relacionar las concentraciones de MMP9 en el plasma circulatorio del y tejido adiposo, así mismo los niveles de MMP9 cuando se pierde peso en ambos, plasma circulatorio y tejido adiposo. ⁽³⁹⁾

Es muy importante mencionar que por lo menos en este estudio se demostró que la expresión de MMP9 en tejido adiposo fue menor que en las placas arterioescleróticas y tejidos conocidos por ser ricos en células inmunes, En estudios previos de expresión de genes se ha reportado que el RNAm de MMP9 en tejido adiposo es meramente derivado de la fracción estroma vascular ó más específicamente de macrófagos dentro del tejido adiposo y esto podría explicar porque no se encuentra expresión de MMP9 en adipocitos aislados. No se ha visto que el tejido adiposo sea un determinante significativo para la circulación de MMP9, desde que ha sido medido en obesidad en la que no se asocia con MMP9 en plasma y en los estudios de AIR.

En consecuencia para ser utilizado como un biomarcador predictivo de enfermedad cardiovascular y cáncer, la concentración de MMP9 ha sido utilizado como un biomarcador lesión severa arterioesclerótica en estudios son intervención de pérdida peso y modificaciones en el estilo de vida. Sin embargo las observaciones realizadas la pregunta es si la expansión de masa en el tejido adiposo TA en la obesidad puede contribuir significativamente en los niveles de circulación de MMP9, si lo que puede afectar a pudiera ser utilizado como un biomarcador, y podría ser otra la razón más que la enfermedad por sí misma. Y como se menciona antes que la expresión de MMP9 en tejido adiposo es mucho más bajo que en la placa arterioesclerótica y sabiendo que el tejido es rico en células inmunes. En previos estudios de expresión de genes se reporto que el RNAm de MMP9 e tejido adiposo es principalmente derivado de fracción estroma vascular o más específicamente de los macrófagos dentro del tejido adiposo y esto podría explicar porque no se detecta la expresión de MMP) en adipocitos aislados. Por otro lado hay algunas indicaciones de que mecanismos asociados con el síndrome metabólico pueden afectar la expresión de MMP9, primeramente la expresión de MMP9 de tejido adiposo fue regulada junto con las disminuciones en concentración en plasma, durante la pérdida de peso en un número de pacientes obesos con síndrome metabólico. La reducción de MMP9 en plasma durante la dieta fue relacionada por mejorar las concentraciones de glucosa e insulina en circulación y no en la reducción de masa del tejido adiposo la expresión de MMP9, secundariamente las concentraciones y acción de MMP9 en plasma total correlaciona con los niveles de glucosa e insulina en ayuno y la presencia del síndrome metabólico utilizando la definición de IDF y fue asociada con un incremento en circulación de MMP9. La observación de IDF pero no la definición de la OMS y NCEP de que el síndrome

metabólico fue asociado con MMP9 pudiendo ser explicado por el hecho de que solo la definición de IDF, con la presencia de obesidad abdominal que es un criterio obligado en el síndrome metabólico, esto ha mostrado que el contenido de macrófagos es mucho más alto en la grasa visceral que en la subcutánea. Los macrófagos son la principal fuente de MMP9 y el síndrome metabólico está asociado con inflamación de tejido adiposo, tomando junto es posible que la definición de IDF en la cual incluye a todos los sujetos con obesidad abdominal en combinación con por lo menos dos factores típicos del síndrome metabólico, es superior a la que muestra una asociación con MMP9 comparado con otras definiciones. La falta de encuentros satisfactorios y significativos asociados entre la circunferencia de cintura y circulación de MMP9 se podría reflejar no en todos los sujetos con obesidad abdominal que tienen síndrome metabólico. Sin embargo ni la observación en el estudio ni la intervención en el estudio indicaron que la obesidad abdominal fue fuente significativa para la circulación de MMP9. La circulación de MMP9 fue principalmente asociada con biomarcadores de inflamación. Esos datos se ajustan a la observación de que los macrófagos han sido identificados como primera fuente de muchas de las moléculas en circulación que son detectados en la obesidad y son postulados por ser causa de resistencia a la insulina y en la progresión de diabetes tipo 2. ⁽³⁹⁾

Hay ciertos estímulos, particularmente esos que inducen altos niveles de estrés mecánico característicos como excéntricos (Heinemeier et al 2007; Koskies et al 2001) o ejercicio de alto (Carmeli et al. 2005,2007; Rullman et al 2007), la acción y la producción local de MMP9 en músculo esquelético, generalmente es aceptado que la función de MMP9 en musculo esquelético para procesar la degradación y reparación de matrix, mientras ello se libera en circulación facilitando la angiogénesis (Giannelli et al 2005; Kjaer 2004; Suhr et al

2007). Se cree que la circulación de MMP9 modula la activación de factores de crecimiento y citocinas a través de la degradación de precursores unidos a proteínas y inhibidores (Hashimoto et al 2002; Nakura et al 2005). Aunque los investigadores han explorados los efectos del ejercicio agudo y las concentraciones en músculo esquelético de MMP9 Carmeli et al. 2005, 2007; Rullman et al 2007) y plasma (Saenz et al 2006;Tayebjee. 2005), los efectos de ejercicio para la circulación de MMP9 no han sido bien elucidados, las concentraciones en suero de MMP se reporta un pico dentro de un tiempo relativamente corto seguido solo por el ejercicio, pero es posible que las concentraciones en suero de MMP9 representa los efectos de un combaste repetido del ejercicio que ha iniciado una respuesta adaptativa en musculo esquelético, esto al final no se sabe la diferencia de los programas de ejercicio para ser incluidos e incorporados basados en la resistencia y en una composición de peso corporal y ejercicio aeróbico. Por lo que diferentes estudios se han enfocado a caracterizar la expresión de MMP pre y post ejercicio de horas hasta varias semanas. Midiendo la expresión de RNAm y las concentraciones de MMP9 en suero realizadas en músculo esquelético. ⁽⁴⁰⁾

La actividad de MMPs es regulada por los niveles de genes de transcripción, activación de pro enzimas y la vía de otras actividades por inhibidores endógenos, inhibidores en el tejido de MMPs. Los TIMPs son una familia de 4 proteínas (TIMP-1 a TIMP4) que selectivamente inhiben a las MMPs en relación 1 a 1. Los TIMPs pueden ejercer actividades biológicas independientes de la acción de bloquear MMP, el balance entre MMPs y TIMPs es un determinante crítico de integridad y función de la matriz extra celular y alteraciones en proteólisis mediada por MMP/TIMP pudiendo contribuir en muchos estados patológicos. El papel de remodelación y las rutas proteolíticas ocurren

durante la adipogénesis en la formación del tejido adiposo solo empezando a desplegar. Estudios indican que la degradación de la matriz puede ser esencial para la adipogénesis. Esto ha sido propuesto de que la serina proteasa del sistema plasminogeno posiblemente regula la diferenciación del adipocito *in vitro*, como *in vivo* durante la involución de la glándula mamaria, otros estudios han demostrado que las células grasas maduras y adipocitos cultivados secretan gelatinasa A y B (MMP-2 y MMP-9 respectivamente) y que otras actividades proteolíticas fueron inducidas en la diferenciación del adipocito. Se ha descrito los patrones de expresión y activación de MMPs en tejido adiposo durante la obesidad y se ha dado evidencia para involucrar la actividad de metoproteinasas en la diferenciación del adipocito. (38, 39, 40, 41)

2.5.1 Interleucina (IL-6)

La Interleucina 6 es una citocina pro inflamatoria con efectos pleiotrópicos sobre la homeostasis de los nutrientes, muchos de los reportes han mostrado que la circulación de IL6 correlaciona con obesidad y contribuye a resistencia a la insulina, sin embargo puede promover el gasto energético y mejorar la homeostasis de la glucosa. Para entender de cómo regula la IL6 la homeostasis de nutrientes central y periférica es complicado por contradicción y efectos multi-sistémicos bajo varios estados fisiológicos. A la IL6 se le conoce mejor como una citocina pro inflamatoria que regula la inmunidad innata y la respuesta en fase aguda, sin embargo a IL6 solo tiene efecto en tejidos específicos que pueden diferir de humanos a ratones dependiendo del contexto y tiempo de estimulación. La IL6 promueve la inflamación crónica, mientras muestra sus efectos antiinflamatorios durante fase aguda de estimulación en inflamación. La obesidad y su progresión a diabetes

están asociados a la inflamación crónica caracterizada por la secreción de citocinas proinflamatorias como resistina, TNF α y IL6 por adipocitos.

Los datos epidemiológicos confirman que el aumento en la circulación de IL6 correlaciona con el tejido adiposo en los humanos. La IL6 generalmente promueve la resistencia a la insulina sistémica, especialmente durante la obesidad, porque está es secretada por las células grasas de humano resistente a la insulina. Sin embargo, en pacientes con diabetes tipo 2 las concentraciones en plasma de IL6 y TNF α pueden ser un reflejo de los niveles y rangos de sensibilidad a la insulina durante la euglicemia hiperglucemia. Finalmente TNF α es la causa principal de desregularización en la señalización de insulina, por estimulación en la producción de IL6, IL1 y proteína C reactiva- Esto es que IL6 se opone a la acción de TNF α sobre la sensibilidad a la insulina como el ejercicio promueve la secreción de IL6 por el musculo esquelético, mientras mejora la sensibilidad a la insulina y la homeostasis de nutrientes. La pregunta va en dirección a como la IL6 integra múltiples cascadas de señalización para coordinar la homeostasis de nutrientes. ⁽⁵⁾

Los experimentos en células y estudios *in vivo* en roedores muestran que la IL6 promueve la resistencia a la insulina, *in vivo* 90 minutos después de una infusión de IL6 las concentraciones de glucosa e insulina se incrementan. La infusión de IL6 por 3 horas causa resistencia hepática y en músculo para la insulina.

Estudios en roedores, en la que dan una infusión de IL6 recombinante humana para sostener las concentraciones fisiológicas en individuos sanos ó pacientes con diabetes incrementan lipólisis en ausencia de efectos adversos y potencian el rango de infusión a la glucosa durante euglicemia y hiperglucemia. Sin embargo, la IL6 derivada de tejido

adiposo puede tener efectos autócrinos que incrementan la secreción de leptina y la oxidación de las grasas y reduce la expresión y la actividad de lipoproteína lipasa en el tejido adiposo de humanos, un fenómeno que atenúa fuertemente la progresión a la obesidad y a la diabetes, la IL 6 solo tiene características anti inflamatorias por inhibición de $\text{TNF}\alpha$ e IL1 y activando el antagonista de IL1 y IL10. Sin embargo, en los roedores la IL6 tienen efectos centrales similares a los de leptina promoviendo la homeostasis de nutrientes y la sensibilidad periférica de la insulina. Este es el papel de IL6 en la regulación de homeostasis de nutrientes, es contradictorio e incompleta la solución y probablemente se confunde con las diferencias entre la acción de las citocinas humanas y murinas. La leptina es secretada por el tejido adiposo en proporción a la cantidad de grasa almacenada, la información del sistema nervioso central suministra la energía periférica. La acción desregulada de leptina en (ratones ob/ob) incrementan la ingesta alimenticia, mientras reducen el gasto energético. En adición los ratones ob/ob tienen obesidad severa y resistencia a la insulina que progresa a diabetes, sin embargo la obesidad ordinaria en ratones y humanos esta asociada con concentraciones elevadas de leptina, sugiriendo resistencia a la leptina en el sistema nervioso central como causa principal. Interesantemente la IL6 se requiere para una respuesta normal de leptina, como en los adultos $\text{IL6}^{-/-}$ desarrollando en los ratones hiperfagia y obesidad la cual es difícil de prevenir por inyección de leptina periférica.

La interleucina 6 es una citocina multifuncional producida por diferentes tipos celulares incluyendo las células del sistema inmune, células endoteliales, fibroblastos, miocitos y tejido adiposo, intermediando en la respuesta inflamatoria y de estrés. Dado que la concentración plasmática de IL6 es proporcional a la masa grasa, el tejido graso puede ser

una fuente muy importante de esta citoquina, se ha calculado que la tercera parte de la concentración circulante de IL6 proviene del tejido adiposo. La producción y concentración circulante de IL6 se asocia significativamente con el IMC y otras medidas de adiposidad corporal en varones y mujeres post menopáusicas. Se ha otorgado a IL6 un papel preponderante en la aparición de dislipidemia en sujetos con síndrome metabólico. De hecho la concentración de IL6 se asocia a la de marcadores de respuesta en fase aguda incluyendo la Proteína C reactiva (PCR) en paralelo a la dislipidemia (Aumento de triglicéridos (TG) y colesterol de alta densidad (HDL) disminuido). ⁽⁵⁾

En la siguiente figura 6 se muestra como otras moléculas como los LPS generan una respuesta inflamatoria, dando como resultado el aumento en la secreción de IL6 en ratones machos viejos.

Grasa epidídimo

Riñón con grasa peri renal

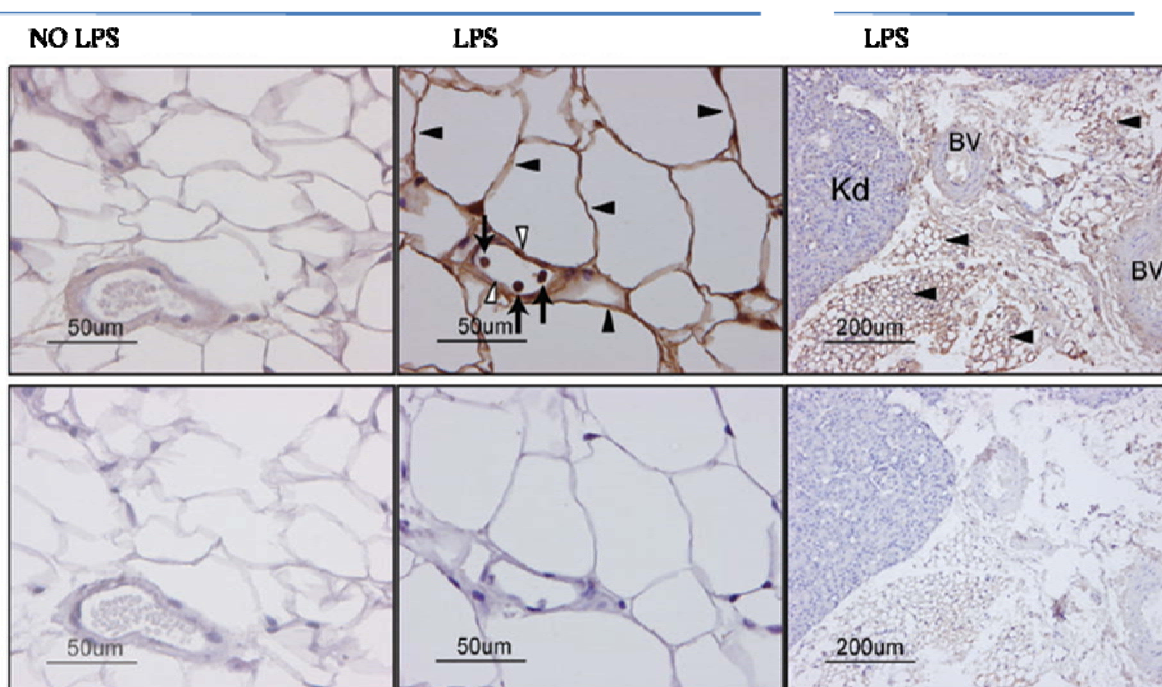


Figura 6. Localización inmunohistoquímica de IL6 en el tejido adiposo, el análisis inmunohistoquímico fue realizado para localizar a la proteína de IL6, en el tejido adiposo de ratones machos C57BL/6 después de una inyección de lipopolisacáridos 2.5 mg/kg de peso, una tinción intensa positiva fue observada con el anticuerpo IL6 en los adipocitos (señalado con las flechas), células de endotelio vascular (señaladas con la cabeza de flecha) y células inflamatorias de tejido adiposo blanco de epidídimo (cabeza de flechas blancas) para ratones inyectados con LPS panel de en medio, una tinción intensa positiva se observó en el tejido adiposo peri renal café (cabeza de flecha negra) asociadas con el riñón (Kd panel de la derecha), pero no con las células de endotelio vascular de sangre venosa (BV) en ratones inyectados con LPS. ⁽⁴²⁾

2.6.1 Receptor tipo Toll 4 (TLR4)

Los receptores tipo Toll o TLR son una clase de proteínas que juegan un papel clave en el sistema inmune innato. Estos son receptores de membrana no catalíticos que reconocen estructuralmente moléculas conservadas derivadas de microorganismos. Los microorganismos se enfrentan a barreras físicas como por ejemplo la piel, las mucosas del tracto gastrointestinal, pero estas son reconocidas por sus TLR los cuales activan la respuesta inmune celular. Reciben este nombre por su parecido a la proteína codificada por el gen Toll identificado en *Drosophila* en 1985 por Christiane Nüsslein-Volhard. (1). El nombre no es referente a casetas de peaje ó peaje de ninguna clase, se llaman así porque los investigadores que los descubrieron se sorprendieron y su entusiasmo los hizo decir Toll que en Alemán significa grandioso, estupendo, fantástico. ^(11, 43, 44, 45)

En la siguiente figura 7 tenemos un ejemplo de cómo los LPS activan esta vía de señalización en los TLR4.

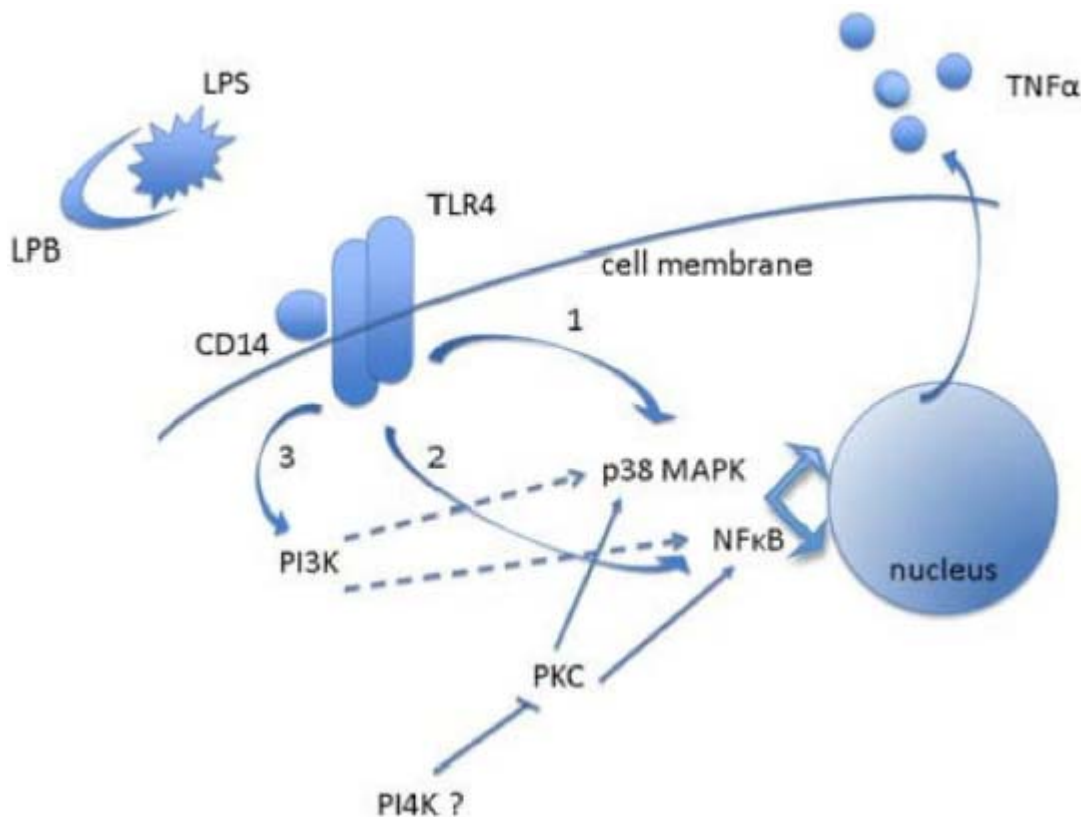


Figura 7. La ruta de señalización involucrada en LPS induce la producción en adipocitos humanos de TNF α . LPS con LBP y CD14 (vienen en el centro) se unen a TLR4 en células adiposas maduras, esta unión activa dos rutas principales en las células. Una ruta conduce la activación de NF kappa B (TRAF6 y IKK) La otra ruta pasa a través de la fosforilación de p38 MAP cinasa. Ambas rutas permite la activación de la transcripción de TNF α , seguido por el anclaje de la proteína vía membrana metaloproteasa ADAM17 o TACE, conduciendo a la liberación de TNF α en forma soluble. La PI3K representa una tercera ruta la cual activa a NFKappa y p38 MAPKm Otra cinasa que quizás juegue un papel inhibitorio es PI4K en la activación de LPS de esas dos rutas así como también esta ligado a PKC, esto probablemente activa a IKK o p38 MAPKs o ambas rutas, Sin embargo la activación no solo es visible desde la inactivación de PI4K constitutivamente inhibe PKC.

En la obesidad el tejido adiposo se inflama teniendo un impacto en general en la glucosa, lípidos y metabolismo energético. Varias rutas de señalización se han propuesto para explicar la patogénesis de la inflamación asociada a obesidad, la activación característica del receptor Toll-like TLR4 por los ácidos grasos como se observa en la figura 8 y la interacción que tiene con los macrófagos que se infiltran en el tejido adiposo en la inflamación (obesidad).⁽⁴⁰⁾.

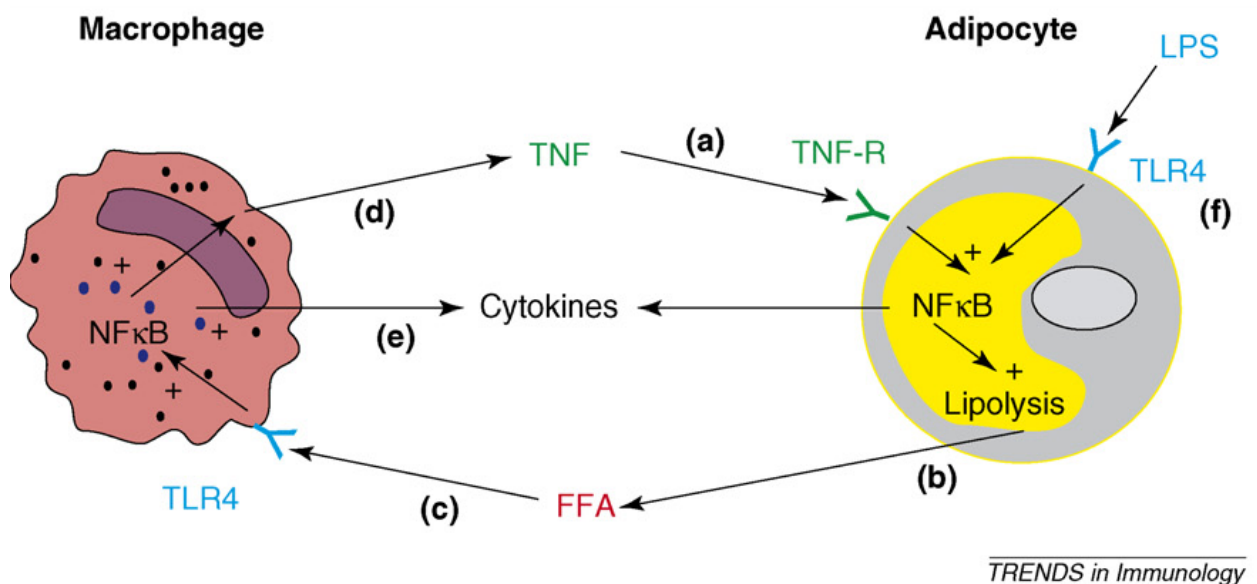


Figura 8. La información local cruzada entre los macrófagos del tejido adiposo y los adipocitos: El papel de los LPS, TNF, TNF Receptor y ácidos grasos. TNF, TNF Receptor (TNFR), ácidos grasos libres (FFA), NFκB y TLR4 representan lo básico en molecular entre la información paracrina entre el macrófago y adipocito. (a) La infiltración de macrófagos en el tejido adiposo secretan altas concentraciones de TNF, estimulando al TNFR en adipocitos incluyendo la activación de NFκB. (b) TNF induce la activación de NFκB en adipocitos resultando en el potenciamiento de lipólisis con los adipocitos liberando ácidos grasos no saturados. (C) Los ácidos grasos actúan como ligandos paracrinicos de TLR4 que inducen la señalización de NFκB en macrófagos. (d) La señalización de NFκB en macrófagos estimula y mantiene la secreción de TNF. (e) La señalización de NFκB en macrófagos estimula la liberación de citocinas proinflamatorias.

Los adipocitos expresan TLR4 y estimulados por los LPS inducen la secreción de citocinas pro inflamatoria por los adipocitos.⁽⁴⁷⁾

La activación de la proteína cinasa C (PKC) ó JNK (c-JUN n-terminal cinasa) por derivados de ácidos grasos (Di glicérido o Ceramida) (9-13), la inducción de Retículo Endoplasmico por estrés (ER) ó el incremento de la actividad de oxidación reactiva (ROS)^(25, 26), y la activación de macrófagos por la muerte del adipocito. Aunque esas teorías son capaces de explicar algunos aspectos de la inflamación y desordenes metabólicos en obesidad, la liga entre la obesidad y el resto de factores para identificarlos. Esto no está claro por qué los ácidos grasos libres (FFA), ER stress, ROS y la muerte del adipocito se incrementa en la obesidad. Los receptores tipo toll se encuentran en todo el cuerpo y se cree que pueden ser miembros activos en la defensa inmune.⁽⁴⁸⁾ La leptina y la adiponectina es producida principalmente por los adipocitos, han sido bien caracterizadas principalmente por su regulación en la funcionalidad de las células inmunes. Aquí surge una pregunta, de cómo los adipocitos y pre adipocitos interactúan con el sistema inmune y si la comunicación está dada por la leptina, por lo que se ha evaluado la expresión de Toll-like receptor (TLR), y la activación de sus ligandos específicos esto se ha estudiado adipocitos y pre adipocitos en modelos murinos, en la presencia de (wild type (WT), o ausencia de leptina (ob/ob) ó señalización de leptina. Los pre-adipocitos y adipocitos ob/ob son mejor que los db/db, y su expresión fue caracterizada por una sobre regulación de TLR1 al TLR9 comparada con las células WT. Se han identificado en el humano 13 miembros de la familia de TLR y 13 en ratones.⁽⁴⁴⁾

En los mamíferos los TLR actúa como un receptor para una gran variedad de bacterias y productos virales, como por ejemplo TLR3 reconoce RNA de doble cadena, mientras que TLR4 interactúa con lipopolisacáridos un componente de la pared celular de las bacterias gram negativas, así cada uno de los TLR tienen diferentes funciones, aquí en especial nos centraremos en el TLR4 y su relación con la obesidad. ^(49, 50, 51)

Una de las influencias para que los TLR se expresen y ejerzan su función es el ejercicio físico, se sabe que el ejercicio extenuante influye en numerosos aspectos del sistema inmune (Perderden and Hoffman-Goetz, 2000), y el ejercicio inducido incrementa sus concentraciones circulantes de varias hormonas inmunomodulatorias por lo que se cree que la modulación central en el sistema inmune está dada por el ejercicio. La hipótesis de que el ejercicio influye en la expresión y la función de los TLR posiblemente está dada por el incremento en la circulación de hormonas en stress. Para aumentar la respuesta de hormonas en stress se induce al ejercicio y así maximizar la probabilidad de observar los efectos del ejercicio en la expresión y función de los TLR. Se ha observado que el ejercicio disminuye la expresión de TLR-4 y se eleva la concentración de hormona como ACTH y disminuye a otra como cortisol. ⁽⁵⁰⁾ El mecanismo exacto del por qué el ejercicio físico disminuye la expresión de TLR-4 no se sabe pero se cree (Gleeson et al) proponen dos diferentes mecanismos que pueden inducir a estos resultados. Primero aunque el receptor-4 tipo toll induce la liberación de citocinas y su activación en la cascada de inflamación, la expresión del receptor-4 tipo toll parece ser que es regulado negativamente por las citocinas. La liberación de las citocinas es el resultado del ejercicio físico y parece ser que disminuyen la expresión del receptor-4 tipo Toll asociada a respuesta inflamatoria como parte de un intento del cuerpo para mantener un balance homeostático. Segundo Gleeson et

al. sugieren que el stress hormonal ejemplo, los glucocorticoides se liberan durante periodos de ejercicio, alteran la función inmune y disminuyen la habilidad del sistema inmune para responder a agresiones. Aunque todavía no está claro los efectos de los glucocorticoides y la expresión del receptor-4 tipo Toll dado que los efectos anti inflamatorios pueden estar ligados a la estimulación de glucocorticoides.⁽⁴⁸⁾

La activación de los TLR guía la activación de las rutas de señalización intracelulares las cuales resultan en la producción de citocinas inflamatorias o quimiocinas induciendo el desarrollo de antígenos específicos en la inmunidad adaptativa. Su activación es benéfica para la célula blanco pero puede llegar a ser deletérea en inflamación crónica. Otra de las funciones además de la respuesta inmune adaptativa e innata, es que los TLR podrían estar regulando el metabolismo energético principalmente actuado en el tejido adiposo. En particular se ha demostrado que los receptores tipo Toll reconocen componentes de la pared celular de los microorganismos, ahora se cree que tiene la habilidad de reconocer ácidos grasos libres e inducir resistencia a la insulina en tejido adiposo. Tanto TLR-2 como TLR-4 han mostrado ser activados por ácidos grasos saturados libres y su implicación en el reconocimiento de lipoproteínas bacterianas, en inflamación los TLR juegan un papel en el tejido adiposo. Estudios epidemiológicos han demostrado la relación entre los depósitos de grasa intra abdominal y las anormalidades metabólicas relacionadas a obesidad. Al respecto el tejido adiposo subcutáneo difiere en características metabólicas tales como diferencias en la lipólisis y secreción de citocinas con sus respectivos blancos en inflamación. El tejido se relaciona con el alto grado de inflamación, una alta expresión de TLR en este tejido y puede corresponder a una implicación de esos receptores en obesidad relacionados en

inflamación. Se ha demostrado que la inflamación correlaciona con la disminución de lipogenesis y que la estimulación de TLR interfiere con la diferenciación del adipocito. ⁽⁴³⁾

Los adipocitos no solo son potentes productores de adipocitocinas incluyendo adipocina, leptina y visfantina pero responden y producen varias citocina incluyen interleucinas IL-6, factor de necrosis tumoral TNF α y IL-10. En estudios recientes se ha indicado que las adipocitocinas pueden participar activamente en la regulación del sistema inmune. Los lipopolisacáridos son los ligandos más estudiados del hemodimero de TLR4, sin embargo el TLR4 no es suficiente para efectuar una respuesta para los liposacáridos y otra de las proteínas del complejo de reconocimiento de LPS, de la línea de diferenciación de 2 las 14 requeridas. El componente critico de estimulación de LPS para los TLR4 es la subunidad A, la cual es al menos compuesta íntegramente por ácidos grasos, (Lien et al .2001), con esos datos se sugiere que la circulación de NEFAS es un ligando potencial para los TLRs y podrían mediar los eventos intra celulares inducido por cambios en la concentración de lípidos intracelulares. ⁽⁵²⁾ Las grasas que NEFAs han mostrado que activan TLR2 en C2C12 en células miogenicas (Senn 2006), y los TLR4 en RAW264.7 en la línea celular de macrófagos y en 3T3-L1 pre-adipocitos (Shi et al 2006) corroboró esta hipótesis. El TLR4 contribuye a la patogénesis de resistencia a la insulina inducida por NEFAs (Shi et al). Los ratones carentes de TLR4 fue sustancialmente protegidos por la capacidad de la infusión de lípidos capaces de despuntar la señalización de insulina en musculo esquelético y reducir la insulina inducida por el consumo de glucosa, sin embargo esos ratones solo se protegieron de resistencia a la insulina por el consumo de dieta alta en grasas en tejido adiposo y musculo esquelético (Randin et al 2008; Shi et al 2006) y mostraron niveles reducidos de citocinas pro inflamatorias características como, TNF- α y IL-6. Esos datos sugieren que

TLR2 y TLR4 pueden jugar un papel de enlace molecular entre lípidos extracelulares, inflamación y resistencia a la insulina. En el músculo esquelético de obesos y pacientes diabéticos tipo 2, la expresión de TLR4 se incrementa y el manejo en la ruta de señalización de TLR4 característica como I κ B/NF κ B es más activa (Reyna et al 2008). La incubación de miotubos con palmitato o con el agonista específico de TLR4 lípido A monofosforilado causa un incremento significativo en el contenido de TLR4 (Reyna et al 2008). La expresión de TLR4 solo se incrementa en el tejido adiposo de ratones obesos y el agonista de TLR4 los LPS inducen la expresión de TLR2 (Shi et al 2006), por lo tanto esto es razonable para concluir que la expresión de TLR2/4 es conducida parcialmente dependiendo la activación de TLR4, esas observaciones sugieren que la desregulación en la expresión de TLR puede ser una estrategia efectiva para delimitar las consecuencias deletéreas en los altos niveles de circulación de NEFAs.

2.6.2 Desregulación de TLR4 por ejercicio

Se ha reportado que un programa de ejercicio de 12 semanas, conteniendo acondicionamiento y resistencia al ejercicio reduce el RNAm de TLR-4, TNF- α y IL-6 en músculo esquelético de pacientes obesos (Lambert et al. 2008), los cambios característicos no se observaron después de 7 % de pérdida de peso durante una restricción calórica, esos datos son congruentes con la idea de que una actividad física como estilo de vida puede poseer propiedades anti inflamatorias (Greiwe et al. 2001). Ello es sostenido por previos estudios en el cual la expresión de la proteína TLR4 fue medida en la superficie de células sanguíneas de CD14 positivas. La expresión de TLR4 fue bajo en resistencia al ejercicio en mujeres mayores (McFarlin et al. 2004). El mecanismo por el cual la expresión de TLR4 es

reducido por el ejercicio se desconoce, pero se ha propuesto una explicación (Flynn y McFarlin 2006), una esta basada en tolerancia o el cruce de tolerancia para las proteínas de choque térmico (HSP) las cuales son ligandos de los TLRs y se incrementan sustancialmente durante el ejercicio (Liu et al. 2004), la incubación de monocitos con HSP60 disminuyen la expresión de TLR4 y consecuentemente la respuesta celular para LPS (Kilmartin y Reen 2004), por lo tanto otros mecanismos podrían estar implicados en la regulación de la expresión de TLR durante un programa de ejercicio.

2.6.3 Activación de TLR2 y TLR4 por resistencia al ejercicio

Los NEFAs de cadena larga saturados modulan la respuesta celular mediada por los TLRs (Shi al. 2006) donde la concentración de NEFAs extracelular es constantemente incrementada durante la resistencia al ejercicio, viene la hipótesis de que los TLRs podrían estar involucrados en la señalización celular inducida por una resistencia al ejercicio agudo.

(44, 45)

La regulación directa de TLR4 por ciertos ácidos grasos saturados (SFAs) es parecido a los componentes de este proceso por que el palmitato y otros SFAs actúan directamente estimulando la expresión de citocinas pro inflamatorias y activación de NFkB en cultivo de adipocitos y macrófagos, por lo tanto Suganami et al. recientemente determinaron que los ácidos grasos libres liberados por los adipocitos hipertróficos pueden señalar a macrófagos por lo que TLR4 estimula la liberación de TNF α . Otros estudios por otros grupos han mostrado que la deficiencia de TLR4 en ratones pierden susceptibilidad a la

inflamación inducida por grasas y resistencia a la insulina y que ratones C3H/HeJ son protectores contra la hiperglicemia e inflamación de tejido adiposo cuando la señalización de TLR4 es bloqueada. ⁽⁵³⁾

Los receptores tipo toll (TLRs) son de interés inmunológico porque son iniciadores de la respuesta inmunológica frente a patógenos, las rutas de señalización activadas por diferentes TLRs ha sido motivo de investigación para los diferentes grupos de investigadores. La señalización de los TLRs involucra a una familia de 5 proteínas adaptadoras las cuales se acoplan a la regulación de proteínas cinasa que como consecuencia conducen la activación de factores de transcripción característicos como Factor Nuclear- κ B y miembros del interferón (IFN), familia del factor regulador (IRF señalización). La clave del dominio de señalización, la cual es única en el sistema de TLR, son los dominios (TIR) del receptor Toll/Interleucina-1, el cual está localizado en la cara citosólica de cada TLR, los receptores y solo los adaptadores. Los adaptadores son My88, MyD88-adaptador como (MAL, se conoce como TIRAP), proteínas adaptadoras que contienen el dominio TIR inducida por IFN β (TRIF se conoce como TICAM1), TRIF molécula adaptadora relacionada (TRAM se conoce como TICAM2) y la proteína que contiene el motivo (SARM). SARM se sabe ha llegado a interactuar con TRIF y por lo tanto interfiere con función de TRIF. Estos hallazgos recientes junto con otros en relación en la regulación bioquímica de MAL y TRAM, lo que lleva a la conclusión del papel de los 5 adaptadores en la señalización de TLR y para proveer por la primera vez y detallar la descripción molecular de las primeras fases en la transducción de señales y por lo tanto la iniciación de la inmunidad innata.

2.6.4 Como se inicia la señalización de TLR

El TLR activado es una potente respuesta inmunomodulatoria, la señal que es transmitida por los TLR puede ser controlada, y la evidencia es clara de que si los TLR son sobre activados como resultado de infecciones y enfermedades inflamatorias, como se inicia la señalización de los TLRs y como es controlada. TLR4 (receptor de lipopolisacáridos producto de bacterias gram negativas).⁽⁸¹⁾ Los dímeros de TLRs son preensamblados en un complejo de baja afinidad antes de unirse al ligando, una vez unido al ligando, un cambio de conformación es el que hace que se unan los dominios de los TLRs en la superficie citosólica de cada receptor en una proximidad cerrada, creando una nueva plataforma en la cual la construcción en el complejo de señalamiento, la dimerización de los ectodominios de cada TLR es parecido a una simétrica consiguiendo que el ligando sea monomérico. Esta dimerización simétrica será la causa de que los dominios citosólicos de TLR, para ser asociados simétricamente y consecuentemente forzar una reorganización estructural creando la plataforma de señalización que es necesaria para el adaptador necesario. Sin embargo, la estructura de cristal de la interface adaptador receptor son requeridos para definir precisamente como es que los TLR inician la señalización, desde que la señalización es iniciada cada adaptador conduce la activación de factores de transcripción específicos. Por ejemplo, si después de que el TLR reconoce su ligando puede utilizar una ruta de señalización dependiente o independiente de MyD88, si la vía de señalización es dependiente de MyD88 la señal es conducida vía MyD88 y IRAK, cinasa Serina/treonina y finalmente activa al factor nuclear κB (NF κB), la activación de NF κB se transloca al núcleo e induce la expresión de citocinas inflamatorias. Mientras que la ruta de activación de MyD88 es activada por varios tipo de TLRs, la ruta independiente de MyD88 se activa por

TLR3 y TLR4, en estas rutas IRF3 se activa al mismo instante que NFkB e induce los genes inducibles de interferón. Se sabe que los TLR pueden ser activados por los ácidos grasos libres FFAs, en los obesos los niveles de ácidos grasos libres FFAs circulantes en plasma se elevan, provocando inflamación sistémica y estrés oxidativo lo cual contribuye a la patogénesis de resistencia a la insulina, implicando que los FFAs son una causa importante entre la inflamación crónica y enfermedades metabólicas vía TLR4. Por lo que una de las hipótesis es que la ruta de señalización del TLR4 en el adipocito puede desempeñar un papel muy importante en la enfermedad metabólica, por lo que TLR4 está directamente involucrado en resistencia a la insulina. La expresión de citocinas inflamatorias características como TNF α e IL-6 se incrementan en el tejido adiposo de pacientes obesos, y desde que TLR4 se ha considerado como un componente esencial de inflamación y controla la expresión de varias citocinas, esto se ha podido demostrar en estudio con ratones. ⁽⁵²⁾

Los ácidos grasos libres representan una fuente importante de energía movilizada por triglicéridos almacenados en el tejido adiposo, particularmente durante los periodos de ayuno, pero hay evidencia que sugiere el papel fisiopatológicas de otros nutrientes simples pueden también incrementar rápidamente la demanda energética, elevando los niveles en circulación de ácidos grasos libres, los cuales pueden estar asociados a grasa visceral en obesidad, incrementando la acumulación de grasa en los tejidos blanco de resistencia a insulina. Como podemos observar en la siguiente figura 9 en donde se muestra una probable ruta de señalización para que se de resistencia a la insulina en este contexto.

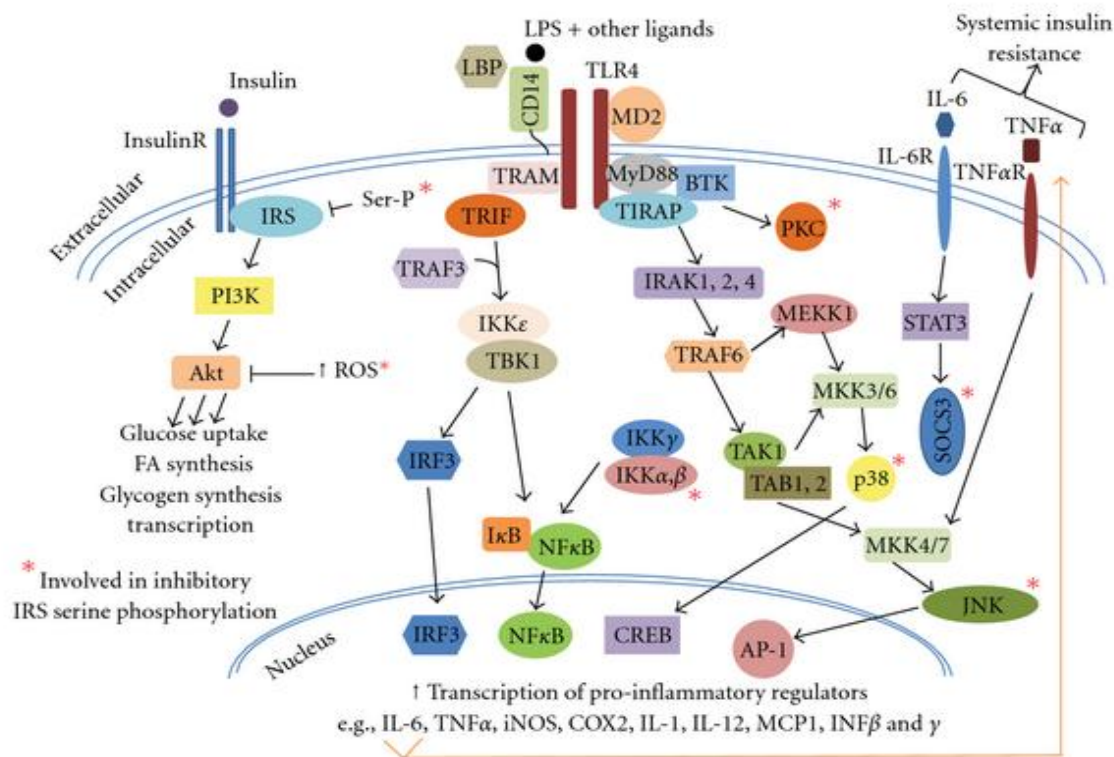


Figura 9. Esquema de cascadas de señalización TLR4. La activación de la transducción de señal de TLR4 a través de MyD88/TIRAP y la ruta TRAM / TRIF conduce a la activación de la respuesta inmune innata y la inhibición en la transducción de señal de la insulina, principalmente a través de la fosforilación de la serina del IRS. La respuesta adicional a la activación de TLR4 no muestra La activación incluida de oxidación de NADPH, reordenamiento del citoesqueleto, y la internalización de los complejos de TLR4 a los compartimentos endosomales.⁽⁵⁴⁾

En los diferentes reportes científicos se reporta que los ácidos grasos libres, los cuales son liberados por los adipocitos vía lipólisis inducida por macrófagos naturalmente sirve como ligando del complejo receptor de tipo toll TLR4, el cual es esencial para el reconocimiento de LPS, para inducir al factor nuclear kB NFκB en la activación de macrófagos, por lo que se cree que TLR4 tiene un papel preponderante en la inflamación del tejido adiposo. Porque los macrófagos en el tejido adiposo de obesos está expuesto a los ácidos grasos libres

liberados en grandes cantidades por adipocitos hipertrofiados, por mecanismos de regulación negativa, por lo tanto los macrófagos son protectores agonistas de la inflamación por ácidos grasos saturados en respuesta del tejido adiposo de obesos. ⁽⁵⁵⁾

2.7.1 Interleucina 18 (IL18)

La interleucina 18 (IL-18) es una citocina pro inflamatoria pleotrópica propuesta por estar involucrada en la etiología de la inflamación crónica, enfermedades inmunes e infecciosas, tanto la producción de IL-1 β e IL-18 son dependientes de la caspasa1 la cual convierte a pro IL-18 en su forma activa. La inhibición de caspasa1 resulta en la disminución de los niveles circulantes de IL-1 β e IL-18 y la reducción en inflamación en modelos animales. ^{73, 74,75}

La IL-18 es un miembro de la familia de citocinas de IL-1 y originalmente fue descrita como interferón gama (IFN- γ). Esta citocina es producida por diferentes tipos celulares incluyendo macrófagos, células endoteliales, células de músculo vascular liso, células dendríticas, y células Kupffer, está es también producida por los adipocitos, pero células adiposas han sido identificadas como la principal fuente de IL-18 en tejido adiposo.

Los niveles de circulación de citocina IL-18 se elevan en obesidad y sus niveles correlacionan directamente con el IMC, adiposidad, resistencia a la insulina, hipertrigliceremia y síndrome metabólico, estos hallazgos en obesidad y síndrome metabólico son acompañados por un estado inflamatorio moderado crónico. Se cree que la IL-18 juega un papel fisiológico en homeostasis energética en ratones hembras y machos. La deficiencia de IL-18 en ratones machos se refleja más tarde en obesidad existe una hipótesis que coincide con los encuentros de que IL-18 es un regulador homeostático que se opone al exceso en el balance energético positivo, mientras que los niveles elevados de IL-

18 en obesidad reflejan una inadecuada compensación, análogo con lo que ocurre con leptina. En consecuencia la pérdida de peso y la hiperglucemia ó el alto contenido de grasa incrementan la circulación de IL-18 por lo que se cree que puede ser un anoréxico endógeno.^(56, 57) En contraste para muchas otras citocinas pero de una manera muy similar para IL1 β , IL-18 son expresadas como precursores, pro IL-18 la cual es inactiva hasta que se ancla a la enzima caspasal. Notablemente caspasal por si misma existe como un precursor inactivo el cual requiere del ensamblaje de un complejo formado por unidades conocidas como inflammasoma para ser activado. Entonces la secreción de IL-18 se une e inactiva por la unión con IL-18, la cual es potenciada por un mecanismo de retroalimentación negativa, como respuesta al incremento en la producción de IL-18, garantizando la protección al tejido dañado durante una actividad pro inflamatoria no controlada. IL-18 se une a su receptor el cual consiste en una cadena α la cual es responsable de la unión extracelular de IL-18 y la cadena β la cual es responsable de la transducción de señal intracelular. Aunque las proteínas libres se unen a IL-18 puede unirse a la cadena α , solo en su fracción libre es capaz de activar la cadena β . En la siguiente figura 10 se representa su posible ruta de señalización.^(61, 62)

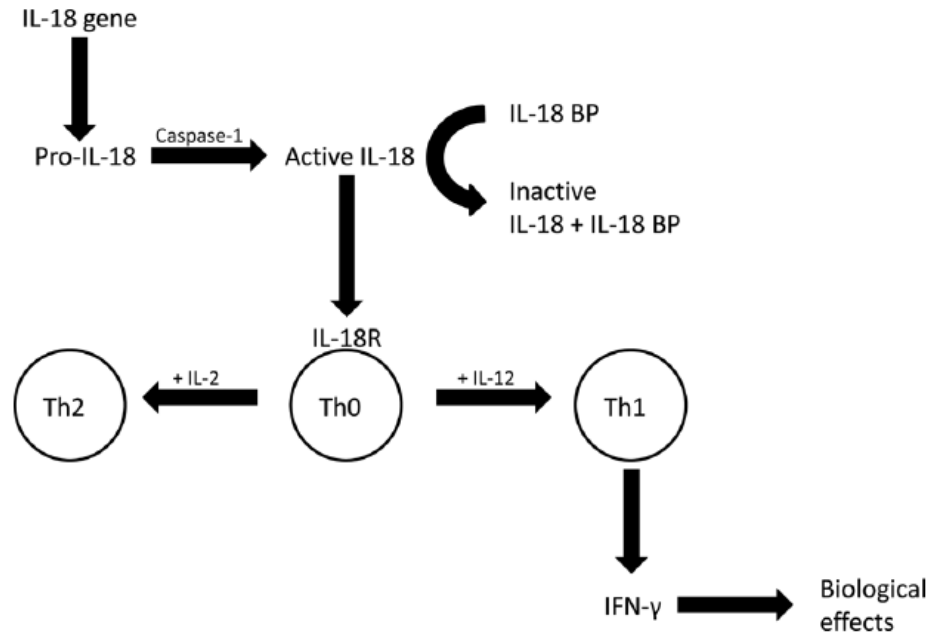


Figura 10. Regulación y efectos biológicos de IL 18. La citocina es secretada como un precursor, pro IL18 la cual es inactiva hasta la escisión de caspasa1, desde que se secreta IL18 se une e inactiva por la proteína de unión IL18 (IL18-BP) y solo la fracción libre puede estimular la señal de transducción vía cadena- β del receptor de IL18. Los efectos biológicos son dependientes de la citocina milieu: La IL18 puede estimular la respuesta en combinación Th2 con IL2 y puede actuar sinérgicamente con IL12 para estimular a Th1 con respuesta de producción de interferon γ característica central de lesión arterioesclerótica.⁽⁵⁶⁾

IL-18 es una potente citocina pro inflamatoria la cual potencia a la maduración celular de células T natural killer, para una mejor producción de citocinas, quimiocinas y moléculas de adhesión celular. Los linfocitos CD4⁺ pueden estimular ambos tipos de respuesta por celas T cooperadoras (Th1) y Th2 dependiendo de la respuesta en su citocina milieu: La IL-18 puede estimular la respuesta de Th2 en combinación con IL2 y puede actuar sinérgicamente con IL12 para estimular la respuesta de Th1 con producción de IFN γ .⁽⁵⁶⁾

2.8.1 Interleucina 33 (IL33)

Recientemente IL-33 se ha descrito como un miembro de la familia IL-1, es un precursor sintetizado de 30-kDa. Pro IL-33 humana parecida a IL-1 β fueron reportadas por ser atrapada por caspasa 1 *in vitro* generando un fragmento de 18-kDa madurando a IL-33 el cual es suficiente para activar la señalización del receptor de IL-33 T1/ST2, más adelante se volverá a mencionar IL-33 puesto que actúa con otras citocinas en conjunto. ⁽⁹³⁾ Como miembro de la familia de IL1 la IL33 induce la producción de citocinas Th2 por interacción con el receptor heterodimero ST2 y el receptor de proteína accesoria IL1 (IL-Racp). El gen ST2 codifica 2 isoforma de la proteína: ST2L un receptor transmembrana y la forma soluble de secreción de (sST)2 la cual puede servir como un receptor para IL33, varias líneas de evidencia sugieren un papel de IL33/ST2 en la ruta biológica cardiovascular. Muy recientemente se demostró que la expresión de IL33 y ST2 en tejido adiposo humano. Se ha demostrado que la IL33 tiene un efecto protector agonista en obesidad y diabetes tipo 2 , la IL33 induce citocinas como Th2 en tejido adiposo blanco y la polarización de macrófagos en tejido adiposo hacia el blanco alternativamente fenotipo activado con reducción de masa adiposa y la disminución de glucosa, tomando juntos esos resultados demuestran un papel protector para IL33/ST2 durante la obesidad y sugiere la inducción de citocinas Th2 y la polarización alternativa de macrófagos por manipulación de la expresión de IL33, puede ser usado como una estrategia terapéutica para el tratamiento y la prevención de de diabetes tipo 2 en pacientes obesos. ^(47, 58, 66)

En el fenotipo obeso también está presente esta citocina IL-33 lo puede ocasionar que se asocie a enfermedades como el síndrome metabólico causado principalmente en este fenotipo. Como ya se sabe el tejido adiposo produce una gran variedad de adipocitocinas que pueden influenciar en diferente grado el funcionamiento biológico especialmente en el balance energético, metabolismo de lípidos e insensibilidad a la insulina, el principal grupo

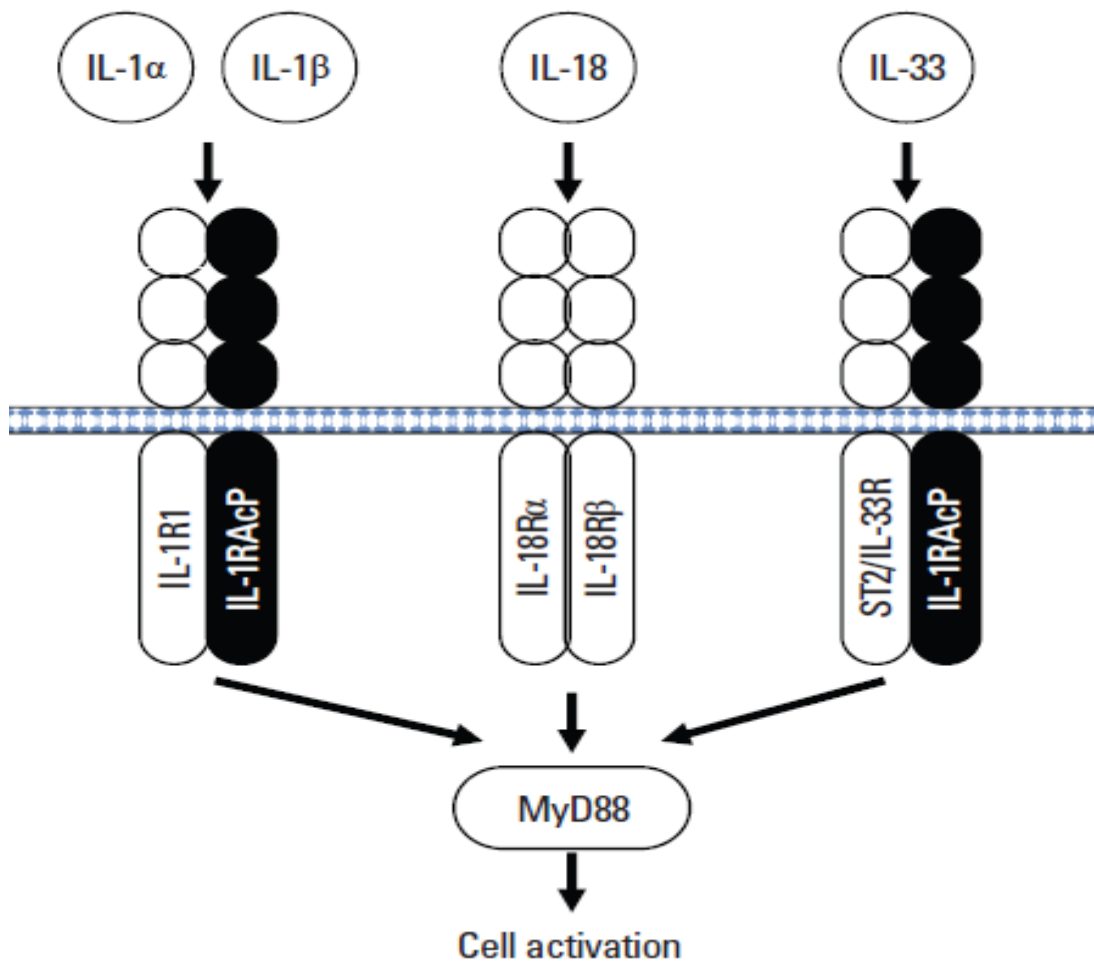
de adipocitocinas están relacionadas a inflamación, en las que se incluye algunas antes mencionadas y otras que se mencionaran más adelante y otras que no se mencionan en este escrito como: $\text{TNF}\alpha$, IL-6, IL-18, IL- 1β , IL8 y MCP estas dos últimas no se mencionan en el escrito. La fuente de estos mediadores de inflamación pueden ser componentes de ambos adipocitos y pre adipocitos del tejido. Dentro de la familia del gen de IL-1 esta IL-33 que es muy parecida a IL-18. IL-33 es sintetizada como un péptido de 30kDa el cual es escendido por la caspasa 1 para formar un péptido maduro activo de 18 kDa. IL-33 ampliamente expresada en el tejido adiposo, pero específicamente localizada dentro de los tipos celulares característicos como células de revestimiento, células del musculo liso. Las citocinas median sus efectos a través de la unión de esta a la membrana donde se encuentra su receptor, IL-1RL1 (ST2) y la proteína accesoria, IL-1RAP la que es común para IL- 1β . En contraste para IL- 1β y IL-18, IL-33 se cree que tiene propiedades anti inflamatorias y el manejo esencial de T_{H2} en la respuesta, aunque se ha reportado también la respuesta de T_{H1} . Se cree que IL-33 puede estar asociada a las áreas del tejido inflamatorio en enfermedad de Crohn's y artritis reumatoide, en consecuencia se ha propuesto un papel dual para IL-33 el cual puede actuar como una señal nuclear y esto es muy similar al que se identificó para IL- 1α .^(78, 79) Desde que se sabe que los adipocitos expresan genes clave como la IL- 1β genes que son miembros de la familia IL- 1β e IL-18, se sabe que el gen de la IL-33 y los genes que codifican a su receptor son expresados en el tejido adiposo humano y en los adipocitos y pre adipocitos, mientras que también se cree que la expresión de IL-33 es modulada por $\text{TNF}\alpha$.^(78, 79) IL-33 induce la respuesta T-tipo cooperador (T_H) en la respuesta inmune característica de defensa para enfermedades causadas por nematodos y enfermedades alérgicas, a IL-33 originalmente se le identificó como "DVS27" un gen sobre regulado en arterias cerebrales vaso espásticas después de una hemorragia sub aracnoidea

y como un factor nuclear, “factor nuclear para las vénulas altas endoteliales (NF-HEV)” la cual es expresada en células endoteliales nucleadas. El primer receptor de IL-33 se identificó como IL-1 molécula receptora parecida a la terminación ST2 (el símbolo del gen fue IL1RL1) por Tominaga en 1989. ST2 subsecuentemente se encontró por ser expresado preferencialmente en células Th2 e iniciar muchas de las investigaciones en alergia.

Receptor de IL-33 y la transducción de señal

El receptor de IL-33 está formado por una molécula heterodimérica y consiste de proteínas accesorias como ST2 y IL-1 (IL-1RAcP como lo muestra la figura 11). IL-1RAcP es también conocida como un componente común de receptores para IL-1 α , IL-1 β , IL-1F6, IL-1F8 e IL-1F9.

Figura 11



Receptores heterodimericos para la familia de IL-1 (IL-1). Los receptores de IL-1 e IL-33 comparten el receptor de proteínas accesorias (IL-1RAcP) amplificando la señal de su receptor. ⁽⁷⁹⁾ Durante la defensa contra patógenos la respuesta inmune innata mediada por células reconocen patrones moleculares vía TLRs resultando en inducción de inflamación, en consecuencia factores endógenos pro inflamatorios llamados “daño asociado a patrones moleculares (DAMPs)” (también llamados “alarmas”) los cuales son liberados por células necróticas en el tejido dañado durante el trauma y o la infección, también provoca inflamación sistémica o local, por células del sistema inmune adquirido convirtiéndose en señales endógenas peligrosas.

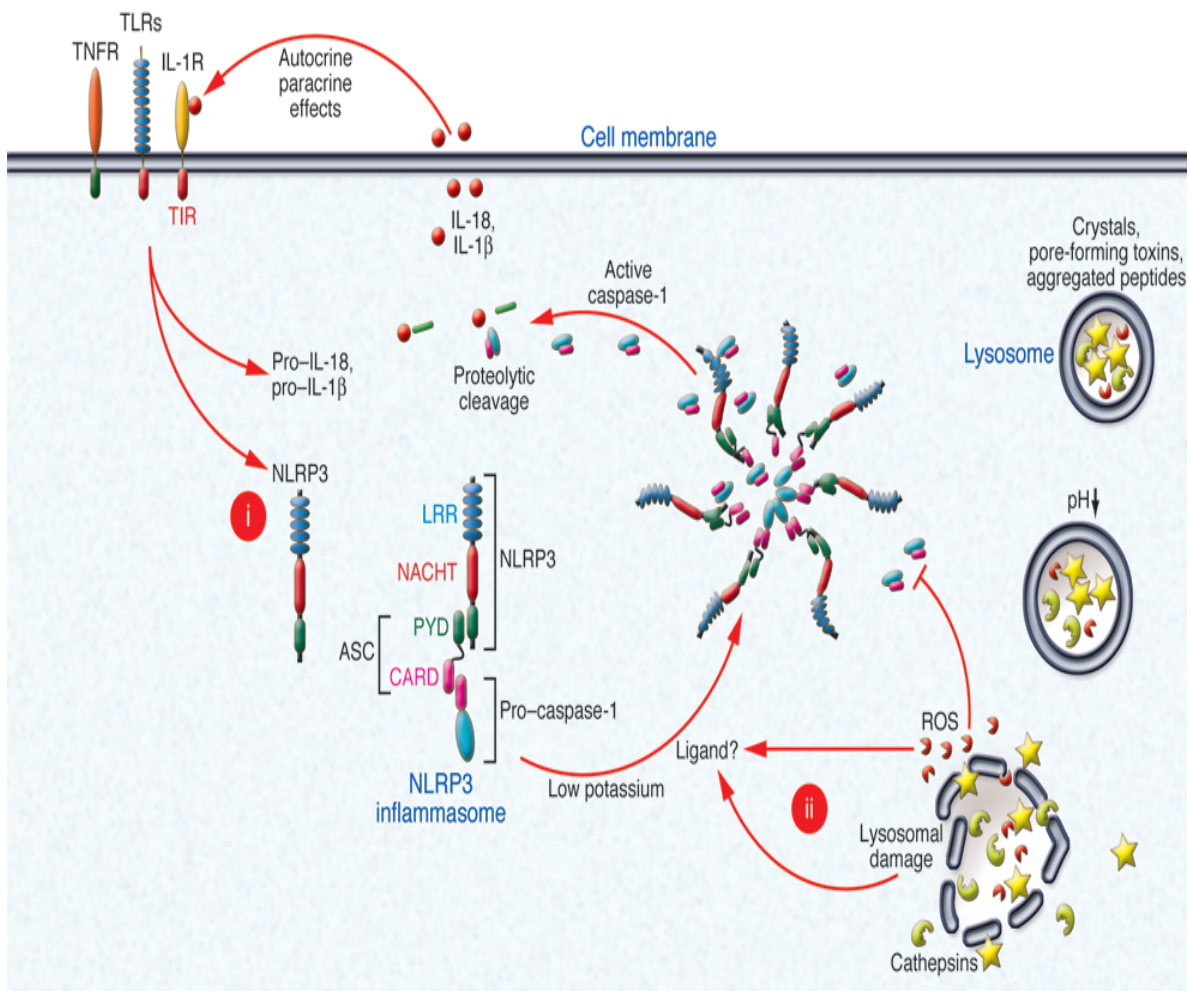
2.9.1 CASPASA 1

Las Caspasas son una familia de proteasas cisteína que regulan la apoptosis y la inflamación, las Caspasas se dividen en dos sub familias basadas en sus principales funciones in vivo, subfamilia pro apoptótica o subfamilia pro inflamatoria. ⁽⁶⁷⁾

La caspasa 1 es una caspasa pro inflamatoria que regula la producción de citocinas y la migración de leucocitos durante la infección de patógenos, pertenece a la familia de proteasa cisteína y regula apoptosis e inflamación, las caspasas se dividen en dos sub familias basadas en sus principales funciones in vivo, sub familia pro apoptóticas o subfamilia pro inflamatoria. Las caspasas 3, 6, 7, 8, 9,10 median los eventos apoptoticos terminando en muerte celular, mientras que caspasas 1,4, son caspasas proinflamatorias, la activación de caspasa 1 resulta en el anclaje y activación de citocinas pro inflamatorias como interleucina 1- β e interleucina 18 como lo vimos en la figura 10. La importancia de la activación de la caspasa 1 resulta en el anclaje y la activación de citocinas proinflamatorias como IL1 β y la IL1-8, aunque la caspasa 11 no interviene directamente en el proceso de pro IL1 β , la coexpresión de caspasa 1 promueve la actividad de caspasa 1 en el procesamiento de pro-IL1 β . La deficiencia de caspasa 11 y 1 en los ratones se desarrollan normalmente pero tienen una anomalía en la maduración de IL1 β y son resistentes a los efectos letales de endotoxinas las cuales indican la importancia de la propia regulación de las caspasa proinflamatorias en la defensa. La acción de la caspasa 1 en la maduración de IL1 β y la IL18 es un paso importante en la cascada de eventos inflamatorios los estudios han sido limitados para investigar el papel de la génesis del dolor e inflamación. ^(59, 60, 61, 63)

Es la responsable del procesamiento y liberación de IL-1 β e IL-18, dos citocinas que son críticas para inflamación. Por consecuencia la deficiencia de caspasa 1 en ratones (casp1 $^{-/-}$) tienen un defecto en la maduración de pro IL-1 β y pro IL-18 y son resistentes a la inducción de LPS en el choque endotoxico. Posteriormente el tratamiento a ratones con un inhibidor selectivo de caspasa 1 reduce la inducción de colágeno en artritis. En este contexto la caspasa 1 fue considerada como un blanco importante en el control de enfermedades inflamatorias. Aunque la acción de caspasa 1 en la maduración de IL-1 β e IL-18 como un paso importante en la cascada de eventos inflamatorios hay estudios muy limitados en que investigan el papel y la génesis del evento inflamatorio. ⁽⁶³⁾

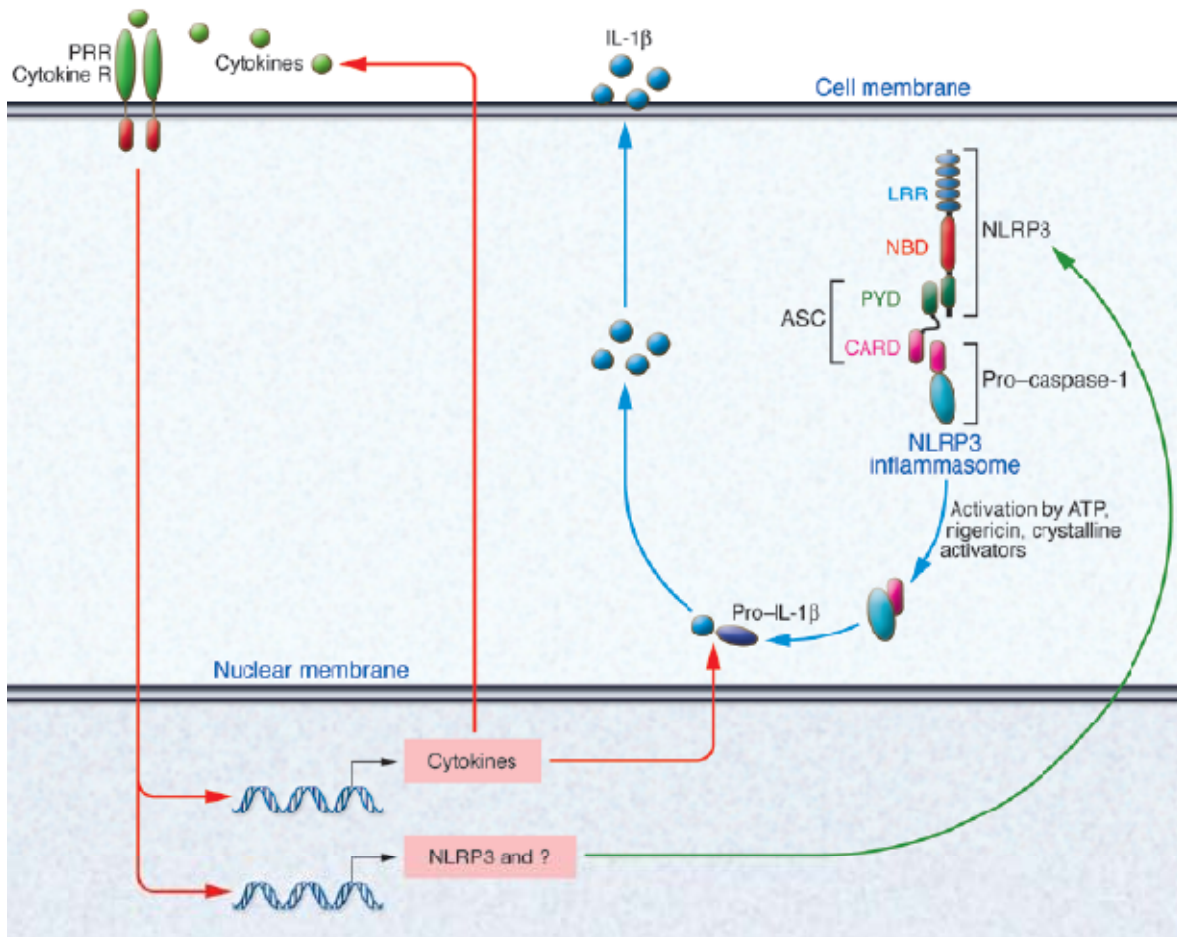
Figura 12



El complejo molecular de inflamasoma es muy grande y controla la actividad de caspasa 1.

I La activación de receptores o patrones de reconocimiento de receptores característicos como los TLRs que inducen la respuesta de Pro IL-1 β y NLRP3. (II) en un segundo paso NLRp3 de inflamasoma ensambla su blanco con niveles de potasio intracelular bajo y la unión de un ligando específico que es generado por la actividad proteolítica.⁽⁸⁰⁾ después del daño lisosomal o por la acción de ROS. El ensamble de NLRP3 en el inflamasoma resulta en la activación de la caspasa 1 la cual activa proteolíticamente la familia de citocinas de IL-1 β . La producción de citocinas pro inflamatorias de la familia de IL-1 β pueden actuar en otros tipos de células y alimentarse de la misma célula L a altas concentraciones de oxígeno pueden también conducir a una desactivación directa de caspasa 1.

Figura 13



El inicio de la activación es esencial para secreción en el inflamasoma de NLRP3 e IL-1 β . PRR y el receptor de citocinas activan la expresión de las forma pro de la familia de citocinas IL-1 y otras citocinas. En consecuencia NLRP3 y posiblemente otras proteínas necesitan la inducción de secreción de IL-1 β . La sobre regulación de NLRP3 es requerida por su activación por ATP, las toxinas forman los poros o cristales. ⁽⁸⁰⁾

2.10.1 Esteroil Coenzima Desaturasa (SCD1)

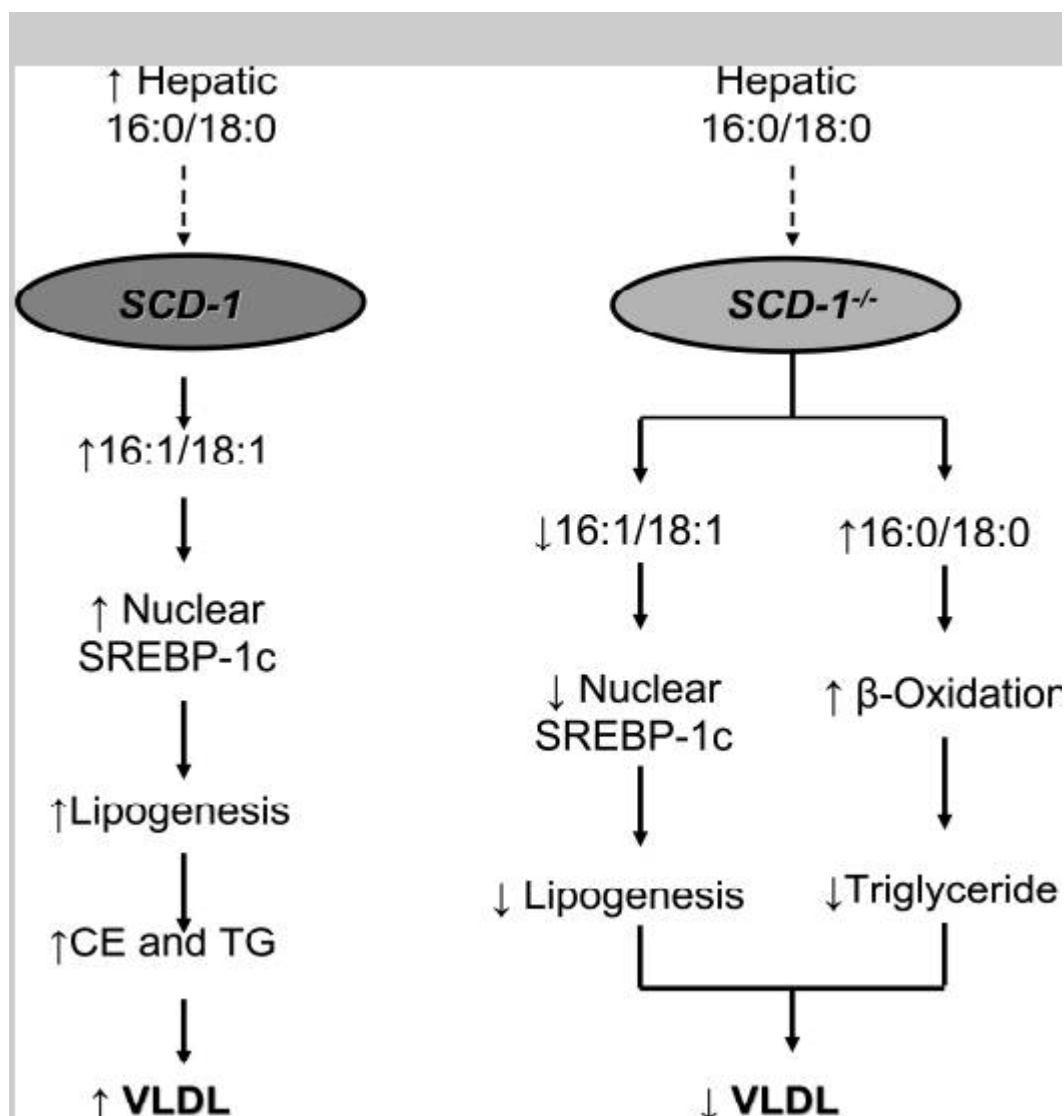
Stearoyl-CoA Desaturasa SCD1 mejor conocido como un potenciador del síndrome metabólico, este síndrome ha llegado a ser una guía de salud para los países desarrollados, este síndrome es una colección de anormalidades metabólicas incluyendo obesidad abdominal, hipertensión, resistencia a la insulina, hipertrigliceremia, y bajos niveles de HDL. Recientemente el síndrome metabólico ha mostrado ser un predictor de enfermedades cardiovasculares arterioescleróticas en humanos. Por lo tanto los blancos terapéuticos del síndrome metabólico son activamente utilizados para combatir la enfermedad y SCD1 es el que ha dado el frente. Por catalizar la conversión de ácidos grasos de cadena larga saturados ó ácidos grasos mono insaturados, SCD1 promueve múltiples aspectos del síndrome metabólico, de hecho en los ratones carentes de SCD1 están muy protegidos de dietas inducidas que ocasionan obesidad genéticamente, esteatosis hepática, hipertrigliceremia y resistencia a la insulina. En ratones SCD1 tiene una inapropiada biosíntesis de lípidos neutrales hepáticos, la hipótesis de de que la inhibición de SCD1 debería disminuir la producción hepática de MUFA-ricos en esteres de colesterol y triglicéridos, por lo tanto la protección agonista de hiperlipidemia y la arterioesclerosis. Para probar esta idea caracterizaron SCD1 de un modelo de ratón de hiperlipidemia y arterioesclerosis. Los resultados de este estudio demostraron que el síndrome metabólico puede ser dissociado por arterioesclerosis en ratones y prevenir que la acumulación de SFA se ha visto que la inhibición de SCD1 puede promover la inflamación y arterioesclerosis. ⁽⁶⁴⁾ como podemos observar en la siguiente figura 11 (probablemente esto pasa también en el adipocito) de cómo actúa SDC1 en el hígado.



Figura 11. El mecanismo propuesto por el cual SCD1 promueve la inhibición de arterioesclerosis, la inhibición de SCD1 en el hígado resulta en la secreción de partículas de VLDL que están altamente enriquecidas en ácidos grasos saturados SFA ricos en esteres de colesterol CE y parecidos a otros metabolitos de SFA los cuales son metabolizados para SFA-CE ricas en partículas de LDL. Estos SFA-CE ricas en LDL entregando abundantes SFA en macrófagos, los cuales también disminuyen la expresión de SCD1 resultando en alteraciones en la composición de la membrana lipídica potenciando el manejo de TLR4 fosforilación tirosina de STAT1 y al final potencia la secreción de citocinas inflamatorias. Este fenotipo pro inflamatorio promueve arterosclerosis.⁽⁶⁴⁾

Un tratamiento efectivo contra la obesidad es un elemento clave para el síndrome metabólico, es una necesidad urgente pero ausente en la actualidad. SCD1 es una enzima con una velocidad limitada para catalizar la conversión de ácidos grasos de cadena larga saturados a ácidos grasos mono insaturados ya que son los principales componentes de los triglicéridos in vivo. Uno de sus sustrato es palmitoyl-CoA (16:0) y esteroyl-CoA (18:0) los cuales son convertidos en palmitoleoyl-CoA (16:1) y oleoyl-CoA (18:1) respectivamente como se muestra en la siguiente figura 14 .

Figura 14



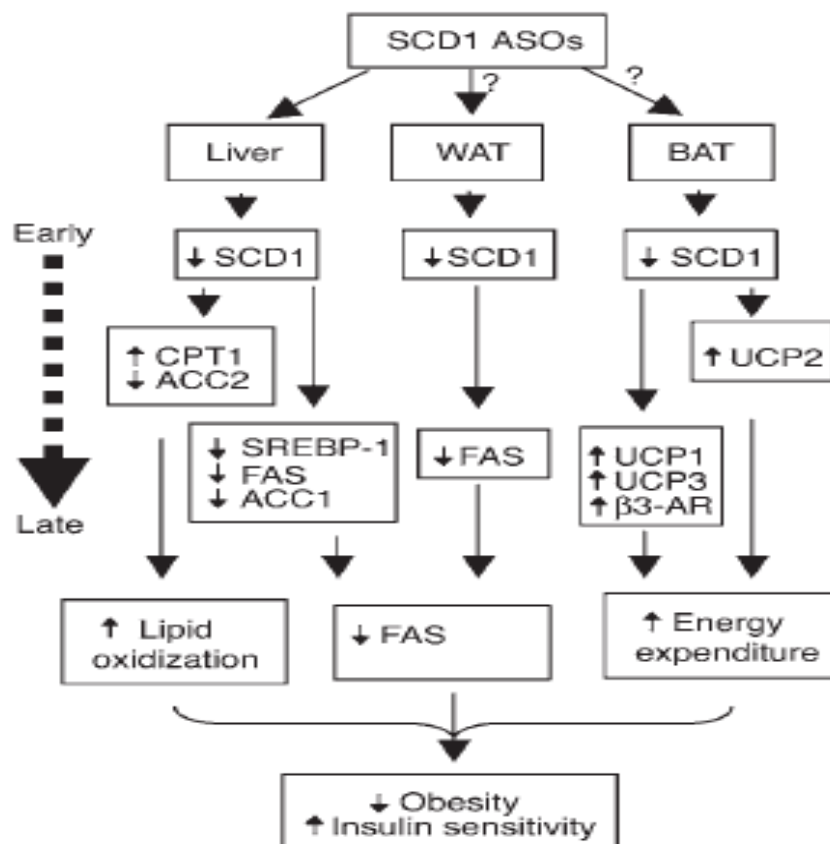
La pérdida de acción de SCD en el metabolismo de lípidos y almacenaje energético. En la presencia de SCD 1 los ácidos grasos saturados hepáticos (SFA) son convertidos en su interior en ácidos grasos mono insaturados lo que incrementa la maduración de SREBP1c, lipogenesis y la síntesis de triglicéridos/colesterol. En la ausencia de SCD-1 (SCD -1 ^{-/-}) la incapacidad de la desaturasa hepática SFA conduce a la incapacidad de sobre regulación de lipogenesis de novó vía SREBP1c y el almacenaje como triglicéridos. Por lo tanto β-

oxidación y el incremento del desacoplamiento (no mostrado) para disminuir los triglicéridos y VLDL.⁸³

Los ácidos grasos mono insaturados son el principal componente de triglicéridos, ester de colesterol y fosfolípidos. Surge evidencia que sugiere que el papel que juega SCD1 es muy importante para el metabolismo de los lípidos y el control del peso corporal. El mecanismo detallado por el cual la deficiencia de SCD1 afecta el peso corporal y al tejido adiposo no se entiende claramente. La leptina podría ejercer sus efectos metabólicos para inhibir a SCD1. Un estudio en ratones knockout para SCD1 tienen una actividad incrementada de proteína cinasa activada AMP la cual podría ser la responsable de la regulación de algunos de los genes importantes en el metabolismo de los lípidos. Recientemente se sabe que la deficiencia de SCD1 incrementa la expresión basal de proteínas desacopladoras (UCPs), 1-3 y β 3-receptor adrenérgico (β 3-ARs) en el BAT e incrementa la termogénesis basal. Con varios estudios que se han realizado con ratones sugieren que la deficiencia de SCD1 reduce el peso corporal y tejido adiposo por un incremento basal en el metabolismo en ratones.⁽⁸²⁾ También se ha reportado que la actividad elevada de SCD1 como se indica por un elevado índice de desaturación (la proporción de oleato para stearoyl-CoA o 18:1/18:0) está estrechamente correlacionado con altos niveles en el plasma de triglicéridos en humanos. En consecuencia parece que la inhibición de SCD1 puede representar un nuevo enfoque para el tratamiento del síndrome metabólico en humanos, sin embargo la interpretación en los resultados de los estudios en modelos genéticos con deficiencia de SCD1 fueron complicados desde el desarrollo de alopecia en ratones deficientes de SCD1 o pérdida de pelo. Más bien la inhibición de SCD1 conducen a una reprogramación más amplia de vías que regulan el metabolismo de lípidos

y esta reprogramación característica que tiene trae sobre el fenotipo metabólico, la base molecular propuesta se ve en la siguiente figura 15.^{82,83, 84}

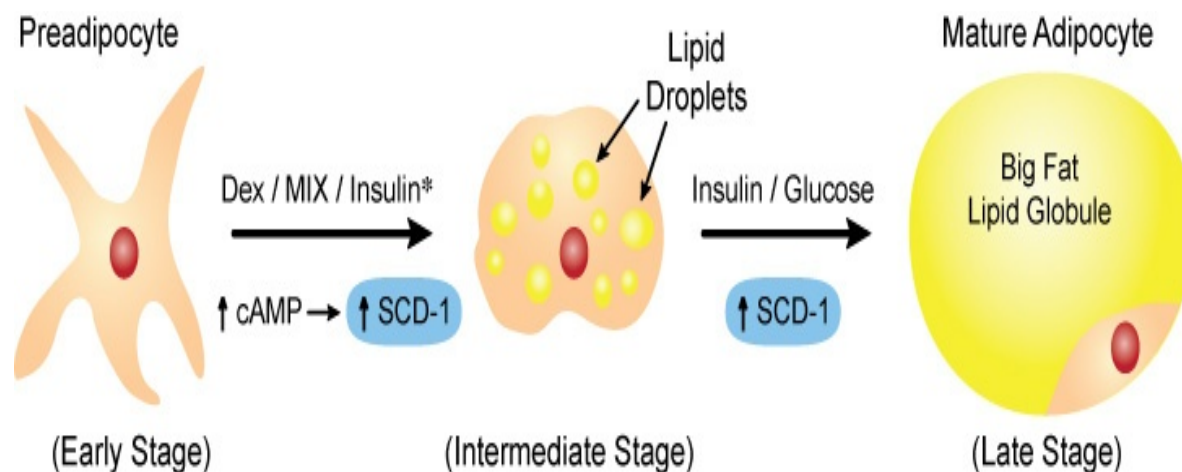
Figura 15



Base molecular propuesta para SCD1 ASO -mediador de efectos metabólicos en ratones. SCD1 ASOs en WAT y BAT reducen directamente los niveles de SCD1 en el hígado. SCD1 ASOs también reducen SCD1 en WAT y BAT, sin embargo mientras la reducción es debido a efectos directos o indirectos desconociendo lo demás. En el hígado la reducción de SCD1 conduce a un incremento primero en los niveles de CPT1 y más tarde la disminución de SREBP1c, FAS, ACC1 y ACC2 esto es posible bajo la regulación de FAS, ACC1 y ACC2 puede ser río debajo de la transcripción del factor SREBP1c, en WAT la disminución de SCD1 conduce a la reducción de FAS, en BAT y la reducción de SCD1 conduce primero al incremento de UCP2 y después de UCP3 y β 3-AR.⁸²

El papel específico de SCD en los tejidos y su diferenciación en cultivos celulares se detalla a continuación en la figura 16.

Figura 16

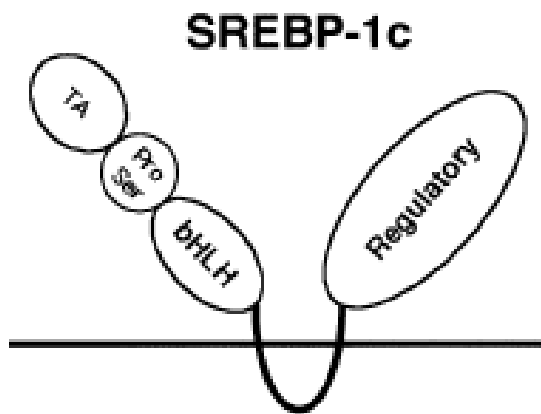


Diferenciación celular y el mecanismo molecular para su diferenciación y la expresión de genes a través del tiempo en una línea celular de ratón fibroblastos (pre adipocito) que se someta a diferenciación de células grasas (adipocitos) en cultivo celular. Durante el proceso de diferenciación los niveles de expresión de un gran número de genes específicos de lípidos incrementan su expresión tal es el caso de SCD1.⁸³

2.11.1 Esterol-regulador-elemento-proteína de unión SREBP1C

El papel de proteína de unión al elemento regulador de esterol SREBP1c ha sido establecido como un factor de transcripción en la síntesis de lípidos específicamente en la síntesis de colesterol y ácidos grasos. SREBP1c tiene características únicas, primeramente es un componente proteínico que se encuentra unido a la membrana y su parte activa N-terminal entra al núcleo para activar genes blanco después de una escisión proteolítica el cual requiere de una molécula sensible a esterol, la proteína activada SREBP y es importante para la regulación de esterol (SCAP), secundariamente ellas se unen y activan esterol-regulación (SREs) que contienen promotores así como algunas E-boxes los cuales hacen elegibles a SREBP para regular ampliamente el ritmo de genes relacionados a los lípidos. Finalmente existen tres isoformas de SREBP-1a-1c y 2 tienen tres papeles diferentes en la síntesis de lípidos. En estudios in vivo en ratones transgénicos y knockout sugieren que SREBP1 está involucrado en el metabolismo de los lípidos incluyendo ácidos grasos y metabolismo de glucosa e insulina, mientras que SREBP2 es específica para síntesis de colesterol.⁸⁵ La estructura de SREBP se muestra se muestra en la figura 17.

Figura 17



Estructura del dominio de SREBP1c

ADD1/SREBP-1c en adipogenesis

SREBP-1c fue clonado como un factor de transcripción para genes involucrados en adipogenesis y designados como diferenciación y determinación del adipocito factor 1 (ADD1). ADD1/SREBP-1c ha sido implicado por estar involucrado en adipogenesis por activación de PPAR γ gen maestro para la adipogenesis. Se reportó que ADD1 activa al promotor de PPAR γ 1 y 3 e induce directamente la transcripción de PPAR γ . Resulta más interesante la inducción en la producción o la secreción de ADD1 de alguna molécula relacionada a los lípidos las cuales pueden estar relacionadas a PPAR γ . Las moléculas de los lípidos podrían ser ligandos endógenos para PPAR γ y la clave para la adipogenesis. Sin embargo el papel de ADD1/SREBP-1c en la adipogenesis y la lipogenesis en el tejido adiposo se ha visto que es muy complejo y no sencillo. En ratones knockout tienen una

pérdida significativa de grasa pero la adipogenesis y lipogenesis fueron gravemente anormales, a través de esto podrían ser explicados por una compensación en la activación de SREBP-2. La sobre expresión nuclear de SREBP-1c de algún modo grasa-específica usando un promotor aP2 en ratones transgénicos con algún daño en la diferenciación del tejido adiposo, causando disminución en la cantidad de grasa y una severa resistencia a la insulina y hiperinsulinemia. Esto se opone a las observaciones que conducen a especular que el tiempo y la cantidad de expresión de ADD1/SREBP-1c puede ser importante para la adipogenesis.^{85, 86, 89, 90}

Para hablar de SREBP1c, tenemos que mencionar que la expresión del gen GLUT4 (transportador de glucosa isoforma tipo 4) en los adipocitos está sujeta a al control metabólico y hormonal. Cuando la expresión del gen GLUT4 aumenta, los niveles de RNAm de SREBP1c (esterol-regulador-elemento-proteína de unión) en el tejido adiposo también se incrementan por retroalimentación. ADD1/ SREBP1c (factor dependiente de diferenciación y determinación del adipocito, esterol-regulador-elemento-proteína de unión 1c), es un factor de acción trans que regula la transcripción de genes involucrados en síntesis de ácidos grasos y colesterol y se expresan abundantemente en hígado y tejido adiposo, en el hígado se ha documentado el papel SREBP1c como un activador transcripcional mediador de insulina de genes involucrados en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. A pesar del papel establecido de SREBP1c en el hígado, la influencia de SREBP1c en GLUT4 y otros genes involucrados en el metabolismo de carbohidratos en los adipocitos no está clara. Se ha identificado que SER (elemento de respuesta a esterol) en la región promotora de GLUT4, también se ha demostrado que SREBP1c media directamente sobre regulación de GLUT4 en el tejido adiposo por un ciclo de rápida retroalimentación en ratas tratadas con STZ que han sido tratadas con

insulina. GLUT4 se expresa en musculo esquelético, corazón y tejido adiposo. GLUT4 juega un papel principal en el transporte de glucosa estimulado por la insulina en esos tejidos, con captación de glucosa y ocurre cuando la insulina estimula la translocación de GLUT4 para el pool intracelular en la membrana plasmática. En consecuencia la actividad intrínseca de GLUT4 puede ser también regulada por modificación covalente. En el hígado SREBP1c es donde mejor esta documentado como un mediador transcripcional activador de genes involucrados en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. El papel establecido de SREBP1c en el hígado y la influencia de SREBP1c en GLUT4 y otros genes involucrados en el metabolismo de carbohidratos en adipocitos no es claro. ⁽⁶⁵⁾

En la siguiente figura 12 observamos el mecanismo de señalización en la cual está involucrada otra molécula que se describirán más adelante pero que también actúa en la misma ruta de señalización como: SREBP1c y LXR.

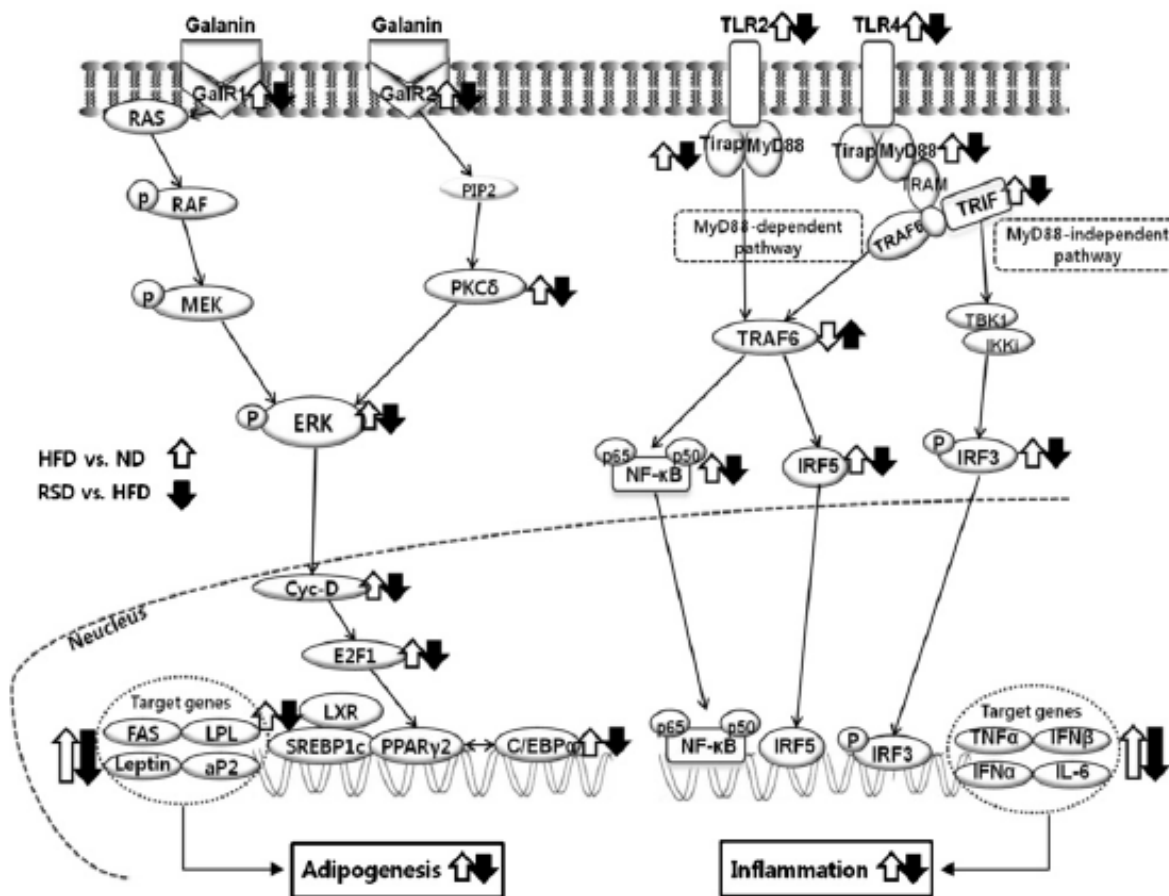


Figura 11. Posible mecanismo molecular de adipogénesis e inflamación inducida por dieta alta en grasas, esta induce cambios en expresión de proteínas como Galanin R1 Y R2 PCKδ y p-ERK, con cambios subsecuentes en las expresiones de Cyc-D y E2F1, los cuales están implicados en la cascada de adipogénesis de Galinin en el tejido adiposo epididimal, Los factores de transcripción rio debajo de adipogénesis (PPARγ2, C/EBPα, SREBP1c y LXR y otros genes blanco (FAS, LPL, aP2 y Leptina) fueron también suprimidos por la dieta en tejido adiposo de ratones. TLR4 usa a MyD88 y MyD88-dependiente de ruta, TRIF se asocia con TBK1 y IKKi, el cual en algún momento conduce a p-IRF3, la dieta puede inducir cambios en la expresión de TLR4 y moléculas rio abajo (My88, Tirap, TRIF, TRAF6, IRF5, p-IRF3 y NFkB) con subsecuentes cambio de citocinas (TNFα, IFNα IFNβ e IL6), los cuales están implicados en la cascada de señalización pro inflamatoria en tejido adiposo epididimal. ⁽⁶⁸⁾

2.12.1 Interleucina 1 β (IL-1 β)

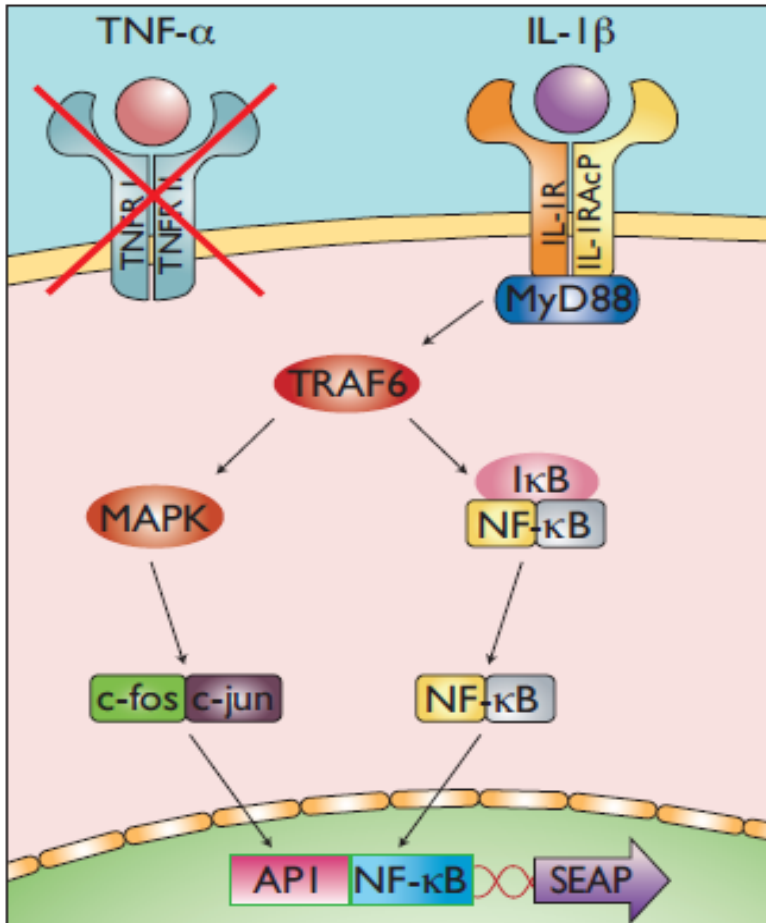
IL-1 β citocina de inflamación y que está regulada directamente por caspasa1 y es dependiente de esta ya que la deficiencia de esta caspasa1 inhibe la maduración de IL-1 β , y tiene resistencia a un choque endotóxico inducido por lipopolisacáridos. Se tienen evidencias de que IL1 β y TNF α estimulan la liberación de IL-8, mientras dexametazona la inhibe. ⁽⁶⁸⁾ Siguiendo con la identificación de la hormona leptina en el adipocito como un regulador fisiológico de balance energético a lo largo del cuerpo el trabajo se empieza a definir como una ruta crítica neuronal que mediante su comportamiento y efectos metabólicos. Las señales de melanocortina neuronales juegan un papel clave desde la interrupción genética o farmacológica de señales de melanocortina que bloquean la señalización y la acción de leptina e invariablemente conllevan a obesidad. Varios encuentros también implican la citocinas proinflamatorias como la IL1 β como un mediador de la acción de leptina en el cerebro. Primero la leptina induce anorexia previniéndolo por la administración intracerebroventricular de un receptor agonista como IL1. En consecuencia se ha demostrado que la administración exógena de leptina incrementa la señalización hipotalámica de IL1 β , soportando un papel potencial de IL1 β mediando los efectos de leptina en el SNC. A diferencia de las mutaciones que interrumpen la señalización de leptina y melanocortina, sin embargo la mutación blanco de receptores de IL1 no causan obesidad en ratones, cambiando la noción de que esta ruta de señalización juega un papel fisiológico en la homeostasis energética. ⁽⁶⁶⁾

La inflamación esta asociada con obesidad y Resistencia a la insulina las citocinas proinflamatorias producidas por el tejido adiposo en obesidad podría alterar la

señalización y acción de insulina. Se ha demostrado con estudio la relación entre la cantidad de IL-1 β y síndrome metabólico o diabetes tipo 2, sin embargo la capacidad de IL-1 β para alterar la señalización y la acción de la misma requiere ser explorada. En un estudio se demostró que los restos de IL-1 β incrementan la translocación de Glut 1 y la ingesta basal de glucosa en adipocitos 3T3-L1, en este mismo estudio el tratamiento prolongado de IL-1 β reduce la ingesta de glucosa por insulina-inducida, mientras que un tratamiento agudo no tiene efecto, el tratamiento crónico con restos de IL-1 β disminuyen la expresión de Glut 4 e inhibe marcadamente su translocación a la membrana plasmática en respuesta a la insulina. Este efecto inhibitorio fue durante la disminución en cantidad de IRS pero no en la expresión de IRS2 en ambos adipocitos humanos 3T3-L1. La disminución en cantidad de IRS1 resulta en la reducción de fosforilación de tirosina y la alteración de activación de PKB e insulina-inducción y fosforilación de AS160. La inhibición farmacológica total de ERK inhibe la regulación río abajo de IL-1 β -inducida y de RNAm de IRS-1. Sin embargo la expresión de la proteína de IRS-1 y la activación de PKB e insulina-inducida, la fosforilación de AS160 y la translocación de Glut 4 fue recuperado parcialmente siguiendo el tratamiento con el inhibidor de ERK. Esos resultados demostraron que IL-1 β reduce la expresión de IRS1 a niveles bajos de transcripción a través de un mecanismo que es dependiente de ERK y un efecto pos transcripcional bajo independiente de la activación de ERK, el objetivo de IRS1, IL-1 β es que son capaces de alterar la acción y la señalización de insulina y esta podría participar en conjunto con otras citocinas en el desarrollo de resistencia a la insulina en adipocitos.^{91, 92, 93,94} Estudios recientes sugieren que IL-1 β podría estar involucrada junto con otras citocinas en resistencia a la insulina, en consecuencia en un estudio con individuos con niveles altos en circulación de IL-1 β e IL-6 tienen un incremento al riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 comparados con individuos

que tienen concentraciones altas de IL-6 pero niveles no detectables de IL-1 β , por lo tanto las concentraciones de IL-1 β se elevan en no-diabéticos offspring de individuos diabéticos t se correlacionan con el síndrome metabólico, finalmente la expresión de ambas IL-1 β y su receptor se incrementan en tejido adiposo visceral de individuos obesos.^{91, 92, 93, 94} En la siguiente figura 18 se observa una vía de activación de IL- β vía NF κ B.

Figura 18



Activación de NFκB por vía de señalización de IL-1β en medio de cultivo HEK-Blue, las células IL-1β fueron estimuladas por diferentes citocinas (IFN-α, IFN-β, IFNγ, IL-1β, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, y TNFα). La producción de SEAP fue detectada solo siguiendo la estimulación de IL-1β.⁹⁴

2.13.1 NLPR3

Nlpr3 es una proteína de 1016 aminoácidos transcrito por el gen *ciars1*, el cual está localizado en el cromosoma 1q44 y consta de 9 exones, la arquitectura de Nlpr3 se asemeja

a un subconjunto de maquinaria que involucra genes de resistencia a enfermedades en la respuesta hipersensible contra la maquinaria virulenta de patógenos (Lamkanfi and Dixit, 2009). La presencia de su centro acción de Nlpr3 esta centralmente en su motivo NOD (también referido como dominio NBD o NACHT) con todos los miembros de NLR (Kannegati et al; 2007b). El motivo NOD esta flanqueado por N-terminal por un dominio pyrin permitiendo interacciones homotípicas con la proteína adaptadora bipartita asociada a apoptosis que contiene una proteína parecida a una mancha CARD (ASC), en el inflammasoma de Nlpr3, en el carbono terminal de Nlpr3 contiene un arreglo de 12 repeticiones ricas en leucina (LRR) se cree que su motivo para que se involucre es modulado por la actividad de Nlpr3 y en ese sentido los ligando de microorganismos como alarmas endógenas. Se menciona esto porque en la obesidad se presenta la inflamación bajo otro concepto, pero que los mecanismos pueden ser muy similares en cuanto a la activación de estas rutas de señalización en la siguiente figura se puede resumir que la activación de Nlpr3m conlleva a la activación y síntesis de otras citocinas que ya se comentaron anteriormente. (68, 69, 70, 71)

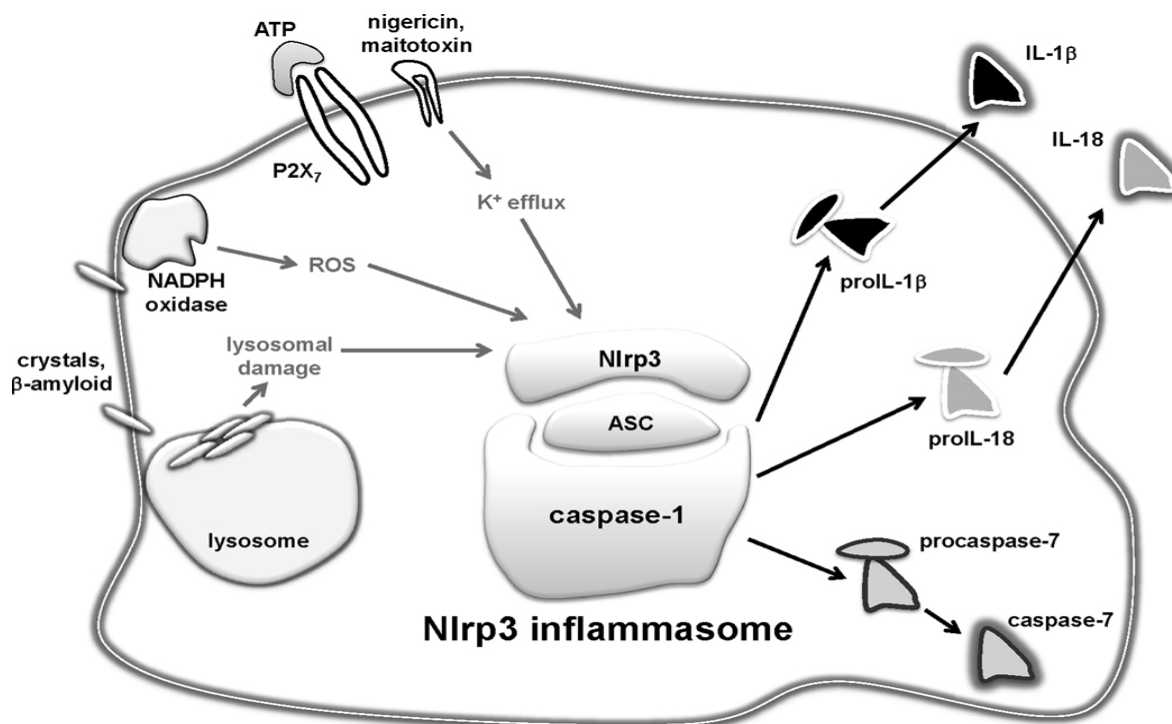


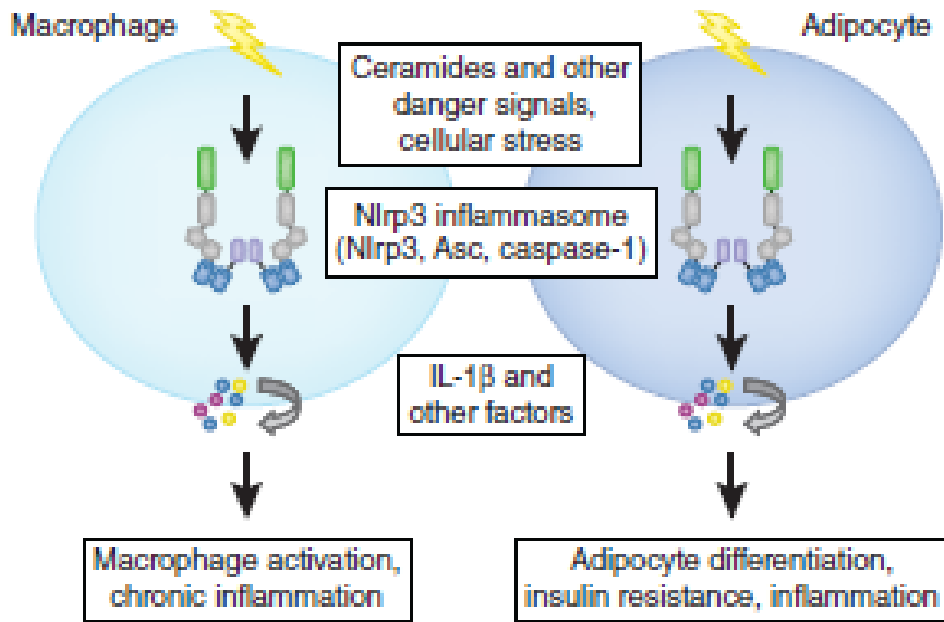
Figura 13. Resumen de las rutas de señalización Nlrp. El ensamblaje y activación de caspasa 1, dentro del citosol el complejo inflammasoma Nlrp es inducido por varios estímulos incluyendo la unión de ATP en el receptor purinérgico P2X₇, los ionóforos nigericina y maitotóxina, β amiloide sustancia cristalina. Nlrp ha sido propuesto como un flujo de salida de potasio. La generación de ROS por NADPH complejo oxidasa y la ruptura de la membrana lisosomal en respuesta a ese estímulo, una vez activada Nlrp en el inflammasoma, caspasa 1 se ancla en su sustrato IL1 β , IL18 y caspasa 7, formas biológicamente activas en el interior. ⁽⁶⁷⁾

Receptores en señalización del sistema inmune inician la orquestación de la inflamación

La inflamación es el blanco de la respuesta a los agentes infecciosos, tejido dañado o células dañadas por toxinas, el encuentro de agentes nocivos por las células inmunes llegan a activar y liberación de un arreglo de factores que conducen a conocer mejor los signos clínicos de inflamación, rubor, calor, dolor, tumor y función. La estructura inflamada dentro del tejido local y conduce al reclutamiento de varias células inmunes con la actuación en concierto de la células del tejido local para eliminar los agentes infecciosos,

sanar el tejido dañado e iniciar el proceso de reparación del tejido. Esta inflamación responde a los efectos protectores que tiene el tejido blanco al posterior daño del tejido, sin embargo bajo ciertas condiciones la respuesta inmune por si misma puede dañar el tejido o resultan en un proceso de inflamación crónica, esta inflamación responde al resultado de la activación de cumulo de células derivadas y sus mediadores (Ejemplo quimiocinas, citocinas, péptidos de antimicrobianos y especies reactivas de oxígeno y especies de nitrógeno) y la cascada de activación bioquímica originada en el compartimiento vascular (Ejemplo complemento, coagulación y sistema fibrinolítico).⁹⁵ La meta inflamación, inflamación crónica de bajo grado es crucial en la patogénesis de obesidad y asociada a enfermedades relacionadas como resistencia a insulina, la obesidad humana y en los ratones muestra una inflamación crónica y bloquea varias rutas de inflamación y mejora la acción de la insulina y reduce la patogénesis metabólica, aunque la meta inflamación es un blanco para las señales metabólicas, como el exceso de nutrientes interfiere con los factores genéticos que inician y sostienen la inflamación en el tejido no están completamente entendido, definir los blancos moleculares y los sensores celulares que inducen la inflamación y esta es una teoría de valor terapéutico. En el inflamasoma Nlpr3 es una proteína del complejo citosólico que consiste en regular la sub unidad Nlpr3 el adaptador Asc y el efecto de la sub unidad de caspasa 1, este es activado por señales peligrosas características de los componentes de células necróticas o tejido dañado o sustancias exógenas tóxicas. En el inflamasoma la activación de Nlpr3 guía a caspasa 1 dependiendo de la producción de citocinas pro inflamatorias IL-1 β , IL-18 a diferencia de muchas otras citocinas IL-1 β y IL-18 son sintetizados como precursores citosólicos latentes que requieren de la secreción y procesamiento de caspasa 1 como se muestra en la figura 19 referente a las señales peligrosas.⁹⁶

Figura 19

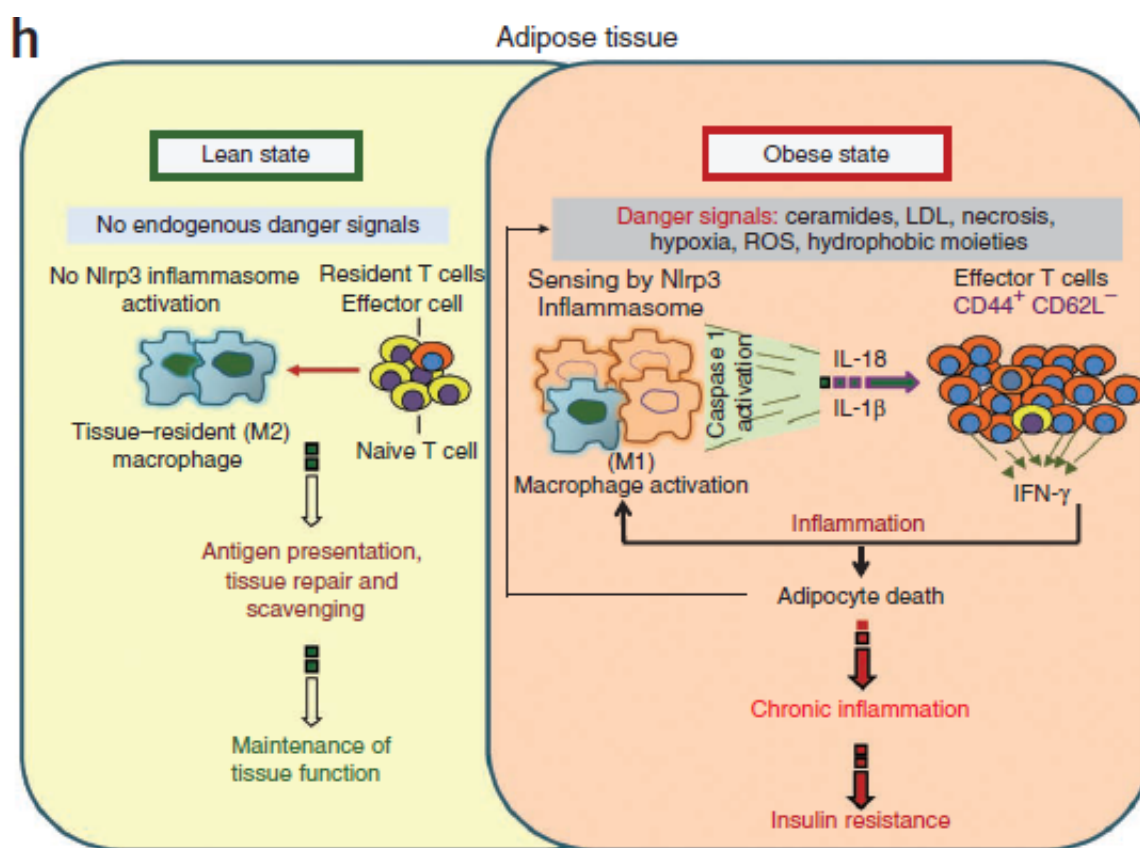


La activación de Nlrp3 en el inflamasoma en el tejido adiposo de obesos contribuye a la patogénesis relacionada con la obesidad. En macrófagos las señales peligrosas características como las ceramidas presentes en el tejido adiposo de obesos activan a caspasa 1 por Nlrp3 en el inflamasoma. Esto conduce al procesamiento y secreción de IL-1 β y otros factores que promueven la inflamación del tejido. La activación de Nlrp3 en inflamasoma en adipocitos también regulan la inflamación, sensibilidad a insulina y la diferenciación del adipocito.⁹⁶

Durante la obesidad las células inmunes se activan aun en ausencia de agentes infecciosos, la obesidad es una inflamación moderada crónica en ese estado activa varias patologías como diabetes tipo 2, defectos de inmunidad, arterioesclerosis, ciertos cánceres y disfunción del sistema nervioso central y demencia. La activación de macrófagos del tejido adiposo dentro de los depósitos de grasa es acoplado con el desarrollo de obesidad induciendo un estado pro inflamatorio y resistencia a la insulina, la activación de macrófago M1 se activan clásicamente a expensas de macrófagos M2 anti inflamatorios y

han sido casualmente parecidos al desarrollo de inflamación del tejido adiposo y síndrome metabólico. En un estado pato fisiológico y acertadamente nombrado meta inflamación este reconoce a varias citocinas pro inflamatorias incluyendo $\alpha\text{IL-1}\beta$ que está implicada en la interrupción de señalización de insulina como lo podemos observar en la siguiente figura 20.^{97, 98}

Figura 20



Modelo hipotético de activación Nlrp3 en inflammasoma en obesidad. En la ausencia de señales peligrosas en un estado saludable los macrófagos residentes del tejido y las células T pueden participar en el mantenimiento y la función del tejido adiposo. En la obesidad en ese sentido Nlrp3 del inflammasoma asociado a señales peligrosas en obesidad como

ceramidas conducen a la auto activación y producción de caspasa 1 , IL-1 β y IL-18 por moléculas asociadas a patógenos ATMs . Señales secundarias que activan a ATMs por efecto de las células T adiposas (definidas como CD44⁺CD62L⁻)mantienen un efecto reciproco pro inflamatorio llevando hacia delante la cascada de obesidad conduciendo resistencia a la insulina, ROS (especies reactivas a oxígeno).^{97, 98}

Existen nutrientes que regulan el flujo metabólico y homeostasis aunque el control transcripcional y translaciones depende de las concentraciones de enzima y la modulación alosterica de actividad enzimática. El tejido adiposo blanco es visto como un órgano dinámico con una gran reserva de energía que puede ser movilizada durante la privación de alimentos con la liberación de ácidos grasos para la oxidación en otros órganos, por lo que el volumen del tejido adiposo se incrementa por almacenar en periodos con balance energético positivo y disminuye cuando el gasto energético se excede comparado con la ingesta. Las células adiposas son derivadas de células stem pluripotenciales y el proceso de adipogenesis involucra una red de comunicación compleja entre varios factores de transcripción algunos de los cuales son sensores para nutrientes, metabolitos y hormonas. Obviamente la lipogenesis el desarrollo y la función del tejido adiposo es responsabilidad de los cambios de dieta y de la dieta por si misma ejemplo los carbohidratos, ácidos grasos y otros metabolitos que inducen la apropiada programación celular vía sensor de nutrientes, que hacen que los nutrientes sean correctamente procesados y almacenados. Se conocen muy bien los integrantes del control homeostático de energía y glucosa, ácidos grasos, triglicéridos y metabolismo de lipoproteínas que son receptores de PPARs y receptor retinoide LXR que regulan el colesterol y el metabolismo de los ácidos biliares. Estos receptores nucleares se unen a una secuencia específica en la región promotora de muchos genes y el control de la transcripción de genes específicos en respuesta a las señales de

nutrientes. Un aspecto relevante de la señalización de los nutrientes en WAT es el papel potencial de los adipocitos en la consecuencia fisiológica de la obesidad, lo más importante de la obesidad es el factor de riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2, una enfermedad caracterizada por resistencia a la insulina, hipo secreción de insulina y hiperglicemia. En consecuencia para almacenar en los compartimientos la grasa, los adipocitos actúan como células secretorias endógenas que liberan una multitud de factores internos en el torrente circulatorio. Estos factores colectivamente designados adipocitocinas se cree que regulan el metabolismo energético y o el crecimiento de tejido adiposo para o endocrino.⁹⁹

III JUSTIFICACIÓN

El problema de obesidad en nuestro país sigue en aumento, ubicándonos en segundo lugar a nivel mundial, motivo por el cual genera el interés para ser analizado desde el punto de vista molecular , y encontrar marcadores genéticos que nos brinden información de la susceptibilidad o resistencia a tratamientos enfocados a reducir de peso.

Debido a que la obesidad además que esta última es un problema de salud pública primario provocando enormes gastos en la economía de nuestro país. El gen de leptina, sus receptores y moléculas como $TNF\alpha$, IL-6, MMP9, TLR-4, IL6, IL10, IL18, IL33, NLPR3, CASP1, SCD1, SREBP1, IL1 β , LXR α , ABCA1, UCP3, AdipoR1, AdipoR2 y $TNF\alpha$ están estrechamente relacionados con la inducción de procesos inflamatorios y la obesidad está definida en parte como un proceso inflamatorio crónico moderado. Es importante entonces estudiar en población mexicana la obesidad se estima en millones de personas por lo que estamos hablando de un poco más de 70 % de la población Mexicana. Estas cifras alarmarían a cualquiera que fuere responsable del futuro económico y el bienestar de México. El hecho de tener sobrepeso u obesidad conlleva a un mayor riesgo de mortalidad, así como al desarrollo de múltiples padecimientos especialmente enfermedad coronaria, diabetes tipo 2, cáncer y apoplejía que hoy por hoy son las principales causas de muerte en nuestro país. La OMS anunció que existen en el mundo más de un billón de adultos con sobrepeso, de los cuales aproximadamente 300 millones padecen obesidad. ^(CDC)

3.1.1 Hipótesis

Los genes candidato varían su nivel de expresión en concentración relativa con respecto a un gen constitutivo (RNAm) disminuyendo o aumentando, en personas con obesidad, que participan en programa de ejercicio aeróbico moderado durante 12 semanas.

3.1.2 OBJETIVO GENERAL

Determinar los cambios y la correlación estadística entre los genes asociados a los niveles de expresión del RNAm de los genes candidato asociados a obesidad e inflamación (Lep, LepR, $TNF\alpha$, IL-6, MMP9, TLR-4, IL6, IL10, IL18, IL33, NLPR3, CASP1, SCD1,

SREBP1, IL1 β , LXR α , ABCA1, UCP3, AdipoR1, AdipoR2), bajo el estímulo de ejercicio asociados con obesidad en el tejido adiposo en 44 pacientes femeninas 23 pre y 21 post ejercicio aeróbico moderado.

3.1.3 OBJETIVOS PARTICULARES

1.- Determinar los cambios de expresión génica asociados al ejercicio de los genes candidato asociados a inflamación (Lep. LepR, TNF α , IL-6, MMP9, TLR-4, IL6, IL10, IL18, IL33, NLPR3, CASP1, SCD1, SREBP1, IL1 β , LXR α , ABCA1, UCP3, AdipoR1, AdipoR2), en relación al estímulo de ejercicio aeróbico moderado, en los adipocitos de cada uno de los participantes antes y después del tratamiento.

2.- Analizar los cambios obtenidos en relación al IMC de los genes candidato asociados a inflamación (Lep. LepR, TNF α , IL-6, MMP9, TLR-4, IL6, IL10, IL18, IL33, NLPR3, CASP1, SCD1, SREBP1, IL1 β , LXR α , ABCA1, UCP3, AdipoR1, AdipoR2) en las personas que participan en el estudio.

IV Diseño Metodológico y materiales

Tipo de Estudio: Se trata de un estudio prospectivo transversal en la que se evaluaron el nivel de expresión de los genes ya mencionados antes del ejercicio y después del ejercicio para verificar la hipótesis y los objetivos propuestos en el tiempo establecido (12 semanas), con un índice de masa corporal (IMC) arriba de 30-40 Kg/m², Esta investigación se llevará a cabo en el Instituto de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran (INCMNSZ) y la

Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional (ESM –IPN), con muestras de sangre de pacientes con obesidad grado 1° y 2°, muestras de tejido adiposo de las mismas pacientes. Teniendo un total de 44 muestras 21 de pacientes sin ejercicio y 23 de pacientes con ejercicio.

4.1.6 Criterios de selección e Inclusión eliminación

Pacientes con diagnóstico de obesidad grado 1 y 2 basados en la evaluación antropométrica del IMC e ICC a los que se les tomo muestra sanguínea, tejido adiposo.

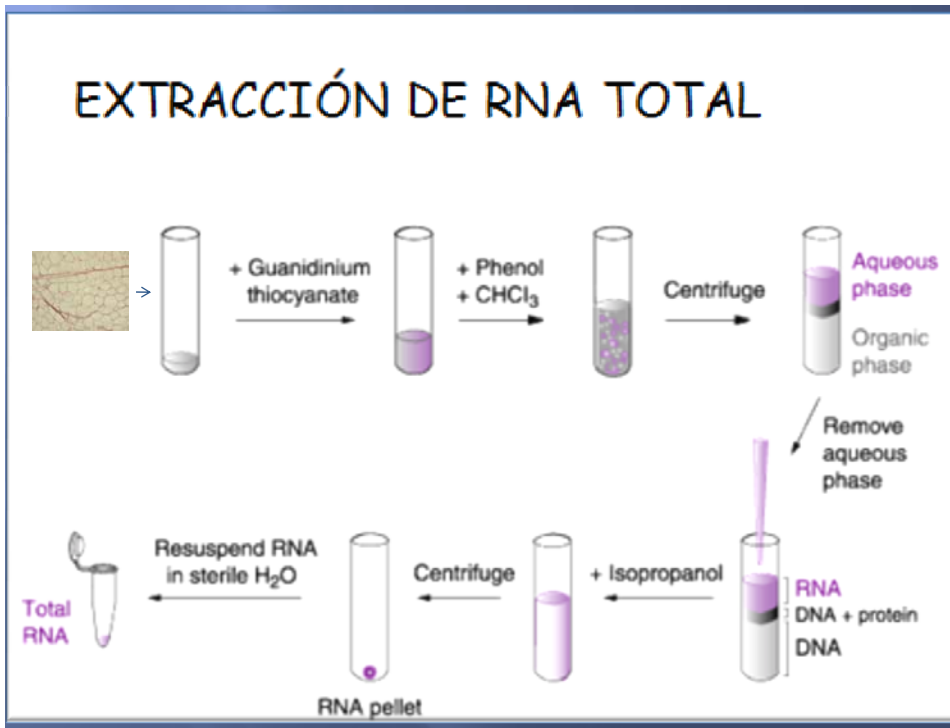
4.1.7 No inclusión

Pacientes que no cumplan con los requisitos antes mencionados o que sus muestras no sean adecuadas (cantidad de muestra en volumen necesario para ser procesadas)

4.2.1 Obtención de muestras de tejido adiposo para extracción de RNAm

El método que se utilizará para la extracción de RNAm será el de fenol-cloroformo. El aislamiento del RNAm se realizo a partir de tejido adiposo, seguido por extracción con fenol cloroformo como se muestra en la siguiente figura 14.

Figura 14



TECNICA.

4.2.2 Preparación de RNA

- 1.- Recolectar tejido adiposo por biopsia de borde inferior de cadera (chaparrera) en tubo con RNA Lateral.
- 2.- No congelar la muestra de tejido adiposo y mantener en refrigeración entre 4° a 8° hasta su extracción.
- 3.- El RNA **se obtendrá** de los adipocitos (células de tejido adiposo) por de RNeasy Lipid tissue Handbook Mini Kit (Quiagen).

- 4.- El tejido adiposo que deberá ser de ≤ 100 mg se pasara a un tubo sardastest de 2.0 mL y se le agregara 1 ml de trizol, con un politron se lizaran los adipocitos, posteriormente se continuara con el método fenol cloroformo hasta obtener el RNA, se purificara con técnica de DNAsas para obtener solo RNA total.
- 5.- Adicionar 200 ul de cloroformo y agitar vigorosamente por 15 segundos (vortex).
- 6.- Incubar la muestra a temperatura ambiente entre 2-3 minutos.
- 7.- Centrifugar a $12,000 \times g$ por 15 minutos a 4°C .
- 8.- Transferir la fase acuosa a un tubo nuevo y agregar un volumen de etanol al 70 % y agitar en vortex, no centrifugar.
- 9.- Transferir la muestra a una columna de RNeasy de 2.0 ml cerrar el tubo y centrifugar 15 segundos a $\geq 8000 \times g$, y descartar el sedimento.
- 10.- Adicionar 700 ul de buffer RW1 a la columna de RNeasy, cerrar la tapa y centrifugar 15 segundos a $\geq 8000 \times g$, y descartar el sedimento.
- 11.- Adicionar 500 ul Buffer RPE a la columna RNeasy, cerrar la tapa y centrifugar por 15 segundos a $\geq 8000 \times g$, y descartar el sedimento.
- 12.- Adicionar 500 ul Buffer RPE a la columna RNeasy, cerrar la tapa y centrifugar por 2 minutos a $\geq 8000 \times g$.
- 13.- Colocar la columna RNeasy a un tubo de 1.5 ml y agregar de 30-50 ul de agua libre de RNAsas y DNAsas cerrar el tubo y centrifugar 1 minuto a $\geq 8000 \times g$.
- 14.- Desechar el tubo de RNeasy y en el tubo donde quedo los 30-50 ul de agua que contiene el RNA, se procederá a purificar el RNA.

4.2.3 PURIFICACIÓN DEL RNA

- 1.- Al tubo que contiene el RNA se le agregara 5 ul buffer 10x, DNAasa I recombinante libre de RNAasa 2.510 Unidades, agua libre de DNAasa y RNAasa, se incuba entre 25 - 37 °C a minutos.
- 3.- Inactivar la enzima DNAasa por 10 minutos a 75°C.
- 4.- Se adiciona 1 ml de trizol, se agita en vortex.
- 5.- Adicionar 200 ul de cloroformo y agitar vigorosamente por 15 segundos (vortex).
- 6.- Incubar la muestra a temperatura ambiente entre 2-3 minutos.
- 5.- Centrifugar a 12,000 x g por 15 minutos a 4°C.
- 8.- Transferir la fase acuosa a un tubo nuevo y agregar un volumen de etanol al 70 % y agitar en vortex, centrifugar 12,000 x g por 10 minutos.
- 9.- Quitar el alcohol con pipeta hasta quitar todo de ser necesario dar un pulso por 20 segundos a máxima velocidad, quitar el sobrenadante y dejar secar.
- 10.- Adicionar entre 30 y 50 ul de agua libre de DNAsas y RNAsas.
- 11.- Cuantificar el RNA en NANODROP.
- 12.- Medir la concentración de RNA por densidad óptica a 260nm. En absorbancia de 1 unidad a 260 nm corresponde a 40mg de RNA por ml ($A_{260}=1=40\mu\text{g/ml}$) ajustar la concentración de RNA a 0.1ug/ul con agua libre de RNAasas. Preparar dos alícuotas con 10 ul por tubo .Almacenar las alícuotas de RNA a -70°C. La medición de RNA total se hará en NANODROP.

4.2.4 Síntesis de cDNA

- 1.- Cada tubo de muestra libre de RNAasas contiene 1 ug de RNA (disolver en 10ul de agua libre de RNAasas como se describió anteriormente, en nuestro caso se ajusto la concentración de RNA a 200 ng/ul y se llevo a un volumen final de 10 ul con agua grado

PCR) y agregar 2 ul de Randon Hexamer primers pmol/ul(vial 6) mezclar lentamente con la pipeta en el fondo del tubo de reacción por 10 segundos y adicionar 1 ul de oligo (dT) primer 50pmol/ul.

Nota usar solo las pipetas que están destinadas en esta área de pre-amplificación.

2.- realizar este procedimiento en hielo.

3.-Incubar los tubos en un termociclador a temperatura de 65°C por 10 minutos, sacarlos y colocarlos en hielo.

4.- Pipetear 7 ul del Master Mix de, que se prepara de la siguiente manera:

Componente	Volumen	Concentración final
Buffer de reacción trascriptasa reversa transcriptor, 5X concentración del vial	4 ul	1X (8 mM MgCl ₂)
Inhibidor de RNAsas protector	0.5 ul	20 U
Mezcla de deoxinucleotidos, 10 nM	2 ul	1 mM
Transcriptasa reversa transcriptor	0.5 ul	10 U
Volumen final	20 ul	

5.- Llevar al termociclador con el siguiente protocolo.

6.- Incubar a 25 °C por 10 minutos, 55 °C por 30 minutos.

7.- Inactivar la enzima a 85 °C por 5 minutos, dejar enfriar a 4 °C.

8.- Sacarla y colocarla en hielo. Ahora la muestra está lista para la amplificación por PCR en Tiempo Real.

Nota para lograr la máxima sensibilidad en la muestra de cada paciente y control negativo realizar los cálculos necesarios para la amplificación de la PCR.

10.- Determinar el número de reacciones de PCR (muestras de pacientes, pool de referencia más control negativo) para realizar los cálculos necesarios para cada componente de la PCR en tiempo real de la siguiente manera:

Componente	Volumen
Agua grado PCR	2.5 ul
Primer sentido	1 ul
Primer anti sentido	1 ul
Sonda	0.1 ul
TaqMan Master Mix 5X	4 ul

11.- De la Master mix adicionar 5 ul en el capilar correspondiente, más 5 ul del cDNA, tapar los capilares y correr la amplificación en Light Cycler 2.0 en el protocolo correspondiente.

4.2.5 PCR en tiempo real

En la PCR en tiempo real, los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior. Además, mediante detección por fluorescencia se puede medir durante la amplificación la cantidad de ADN sintetizado en cada momento, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de ADN formado. Esto permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación.

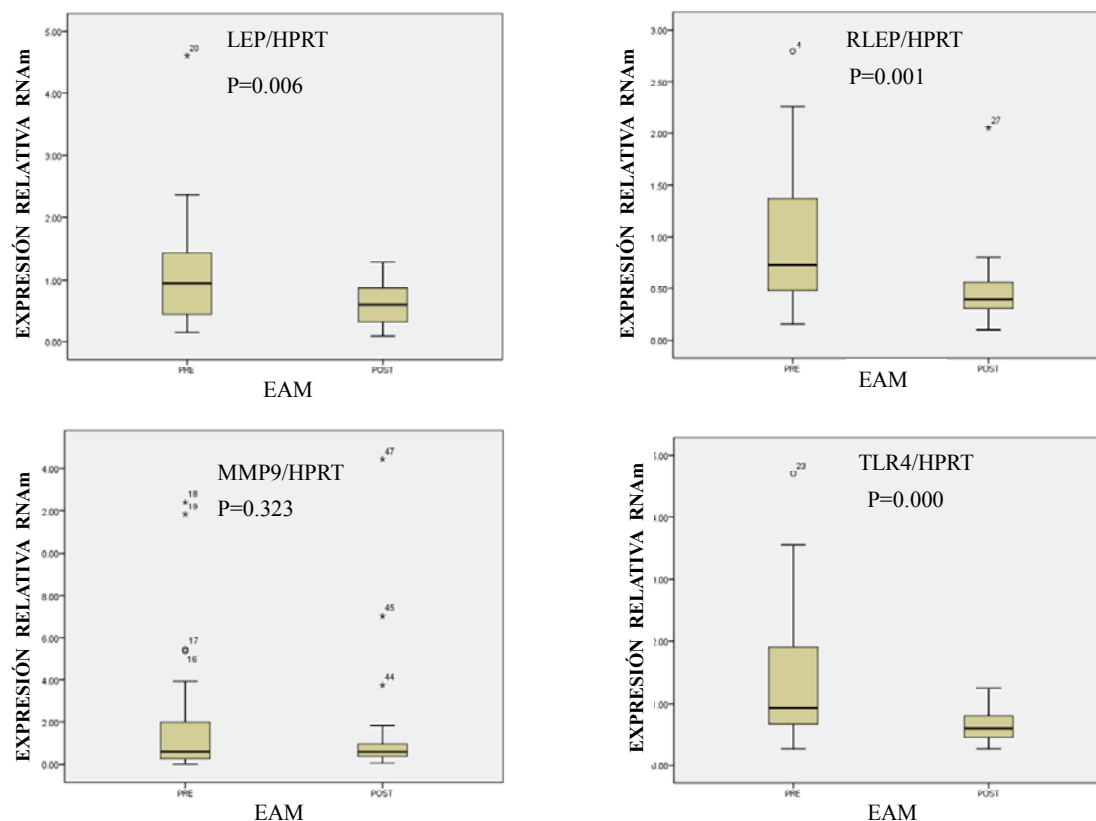
Análisis estadístico Los datos estadísticos se analizarán a través del programa de cómputo SPSS versión 18.0 y se realizarán pruebas t de Student para muestras independientes y no pareadas y correlación de Pearson tomando una $P=0.01$ y $P=0.05$ como significativas así como el análisis de caja de barras y bigotes.

V RESULTADOS

Los resultados obtenidos de los pacientes estudiados en relación al grado de expresión de los siguientes genes *Lep*, *LepR*, *TNF α* , *IL-6*, *MMP9*, *TLR-4*, *IL6*, *IL10*, *IL18*, *IL33*, *NLPR3*, *CASP1*, *SCD1*, *SREBP1*, *IL1 β* , *LXR α* , *ABCA1*, *UCP3*, *AdipoR1*, *AdipoR2*, en mujeres obesas grado 1 y grado 2 antes y después del ejercicio aeróbico controlado durante 12 semanas, se sabe que la actividad física moderada y alta, altera de manera acentuada el balance energético. La importancia del ejercicio físico en el éxito de programas para perder peso se ha reconocido desde hace varios años. El ejercicio físico aumenta el gasto energético a corto plazo y cuando se combina con la dieta es uno de los mejores predictores de la pérdida de peso a largo plazo. Sin embargo, el efecto del ejercicio sobre las vías neuronales de control de la ingestión alimentaria y el gasto energético no está claro, por ello

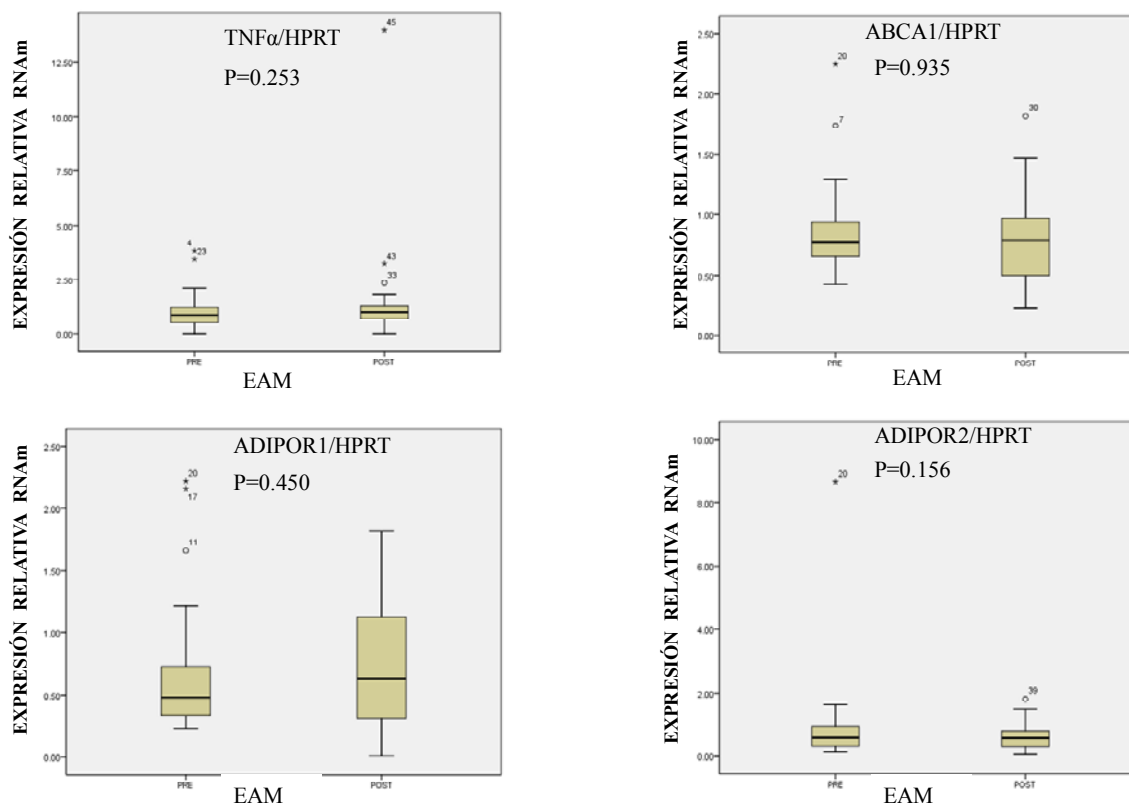
es importante saber cómo se expresan estos genes en estas condiciones y establecer programas de ejercicio, para perder peso y de esta manera tener una población saludable, que retarde la aparición de las enfermedades que están asociadas a la obesidad (diabetes tipo 2, hipertensión, dislipidemia, resistencia a la insulina y enfermedades vasculares) y disminuir el gasto público destinado para estas enfermedades. Se sabe que los valores de referencia del perfil de lípidos se encuentran alterados, es decir en concentraciones altas y esto conlleva a otras enfermedades asociadas a la obesidad, por lo que todo lo anterior que se ha mencionado con relación al ejercicio es muy importante, porque después de llevar un programa controlado de ejercicio; estas concentraciones de lípidos disminuyen hasta sus niveles normales.

Saber si en este tipo de pacientes, estos genes se encuentran sobre expresados o se expresan menos, y correlacionarlos con el grado de obesidad que se determine en el momento de seleccionar a los pacientes y después del ejercicio, se ha demostrando que este programa beneficiara a la población que se encuentra en riesgo de salud. Como se ha observado al obtener los resultados de expresión génica en prueba de t de student y no pareadas con una $P= 0.05$ ó $P=0.01$ se tomara como estadísticamente significativa en la grafica de barras y bigotes, así como la correlación entre los genes estudiados en una prueba de Pearson con una $P= 0.05$ ó $P=0.01$ como estadísticamente significativa. A continuación mencionamos los genes que estadísticamente tuvieron una P significativa y una correlación con P estadísticamente Significativa.

Grafica 1

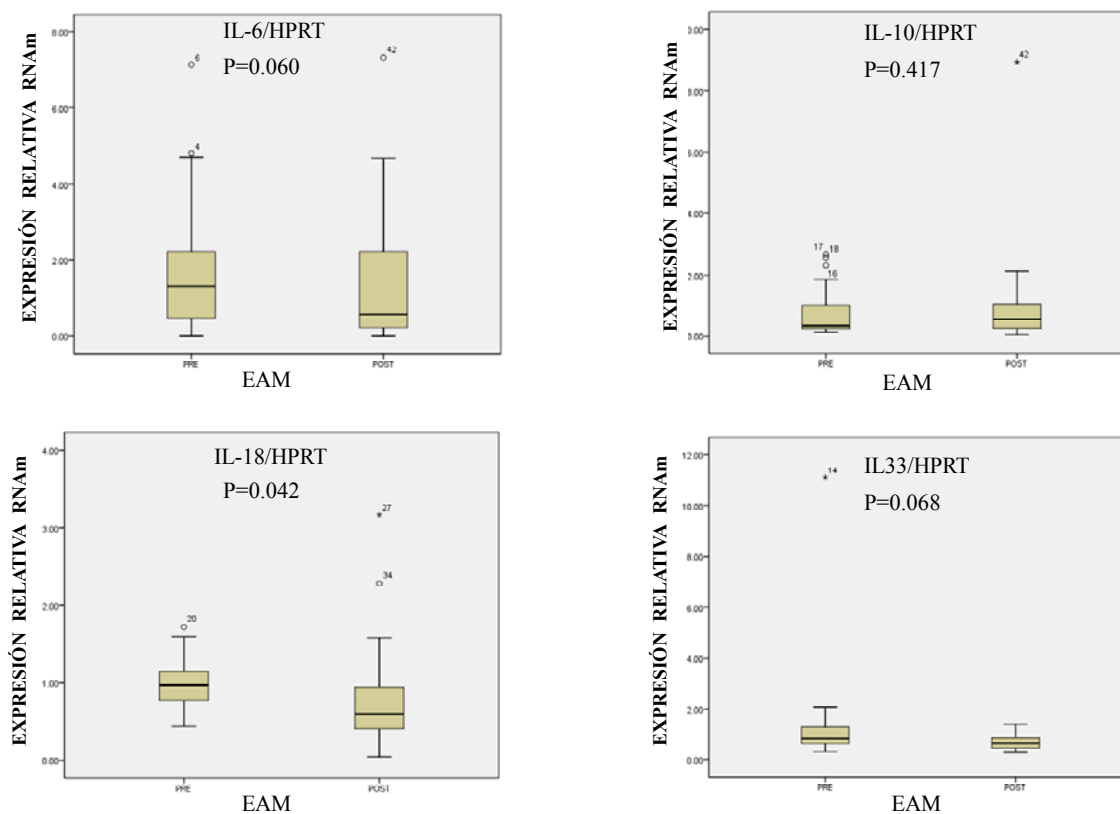
*EAM Ejercicio aeróbico moderado

En la grafica 1 los genes analizados son leptina, receptor de leptina, MMP9 y TLR4, con excepción de MMP9 que no tuvo una P estadísticamente significativa, los demás genes tuvieron una $P=0.001$ estadísticamente significativa asociada a efecto de ejercicio después de las 12 semanas que duro el estudio.

Grafica 2

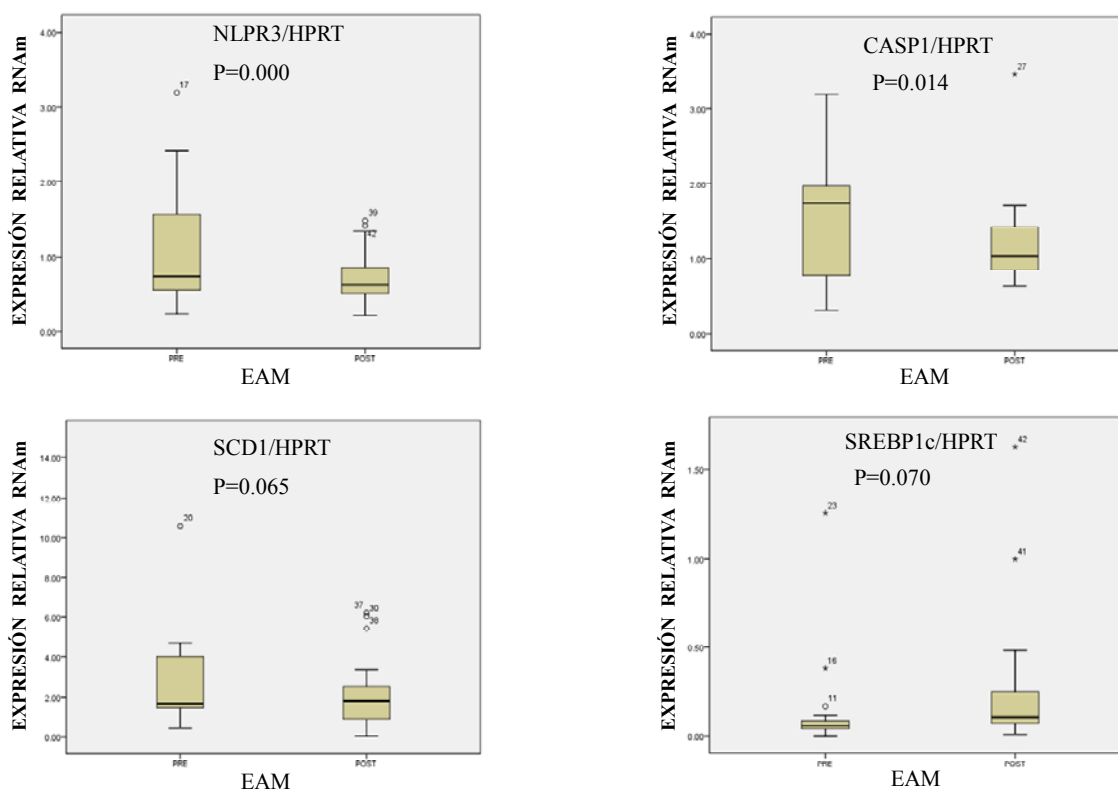
*EAM Ejercicio aeróbico moderado

En la grafica 2 los genes analizados son TNF α , ABCA1, ADIPOR1 y ADIPOR2 ninguno mostro una P estadísticamente significativa asociada a efecto de ejercicio después de las 12 semanas que duro el estudio.

Grafica 3

*EAM Ejercicio aeróbico moderado

En la grafica 3 los genes analizados son IL-6, IL-10, IL-18, IL33; IL10 no mostro una P estadísticamente significativa asociada a efecto de ejercicio después de las 12 semanas que duro el estudio, mientras que IL6, IL-18 y IL33 tienen solo tendencia a tener una P estadísticamente significativa.

Grafica 4

*EAM Ejercicio aeróbico moderado

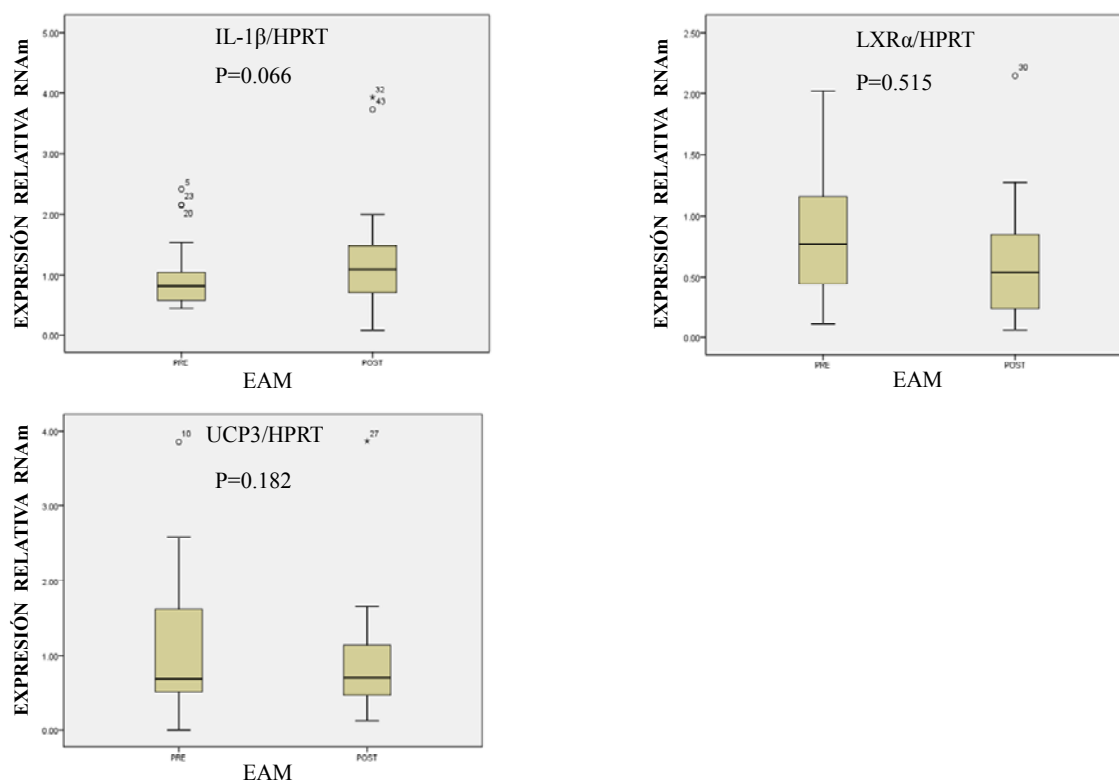
En la grafica 4 los genes analizados son NLPR3, CASP-1, SCD1 Y SREBP1c, en la que NLPR3 y CASP1 mostraron una P estadísticamente significativa asociada a efecto de

ejercicio después de las 12 semanas que duro el estudio, mientras que SCD1 y SREBP1 solo mostraron tendencia a tener una P estadísticamente significativa.

*EAM Ejercicio aeróbico moderado

*EAM Ejercicio aeróbico moderado

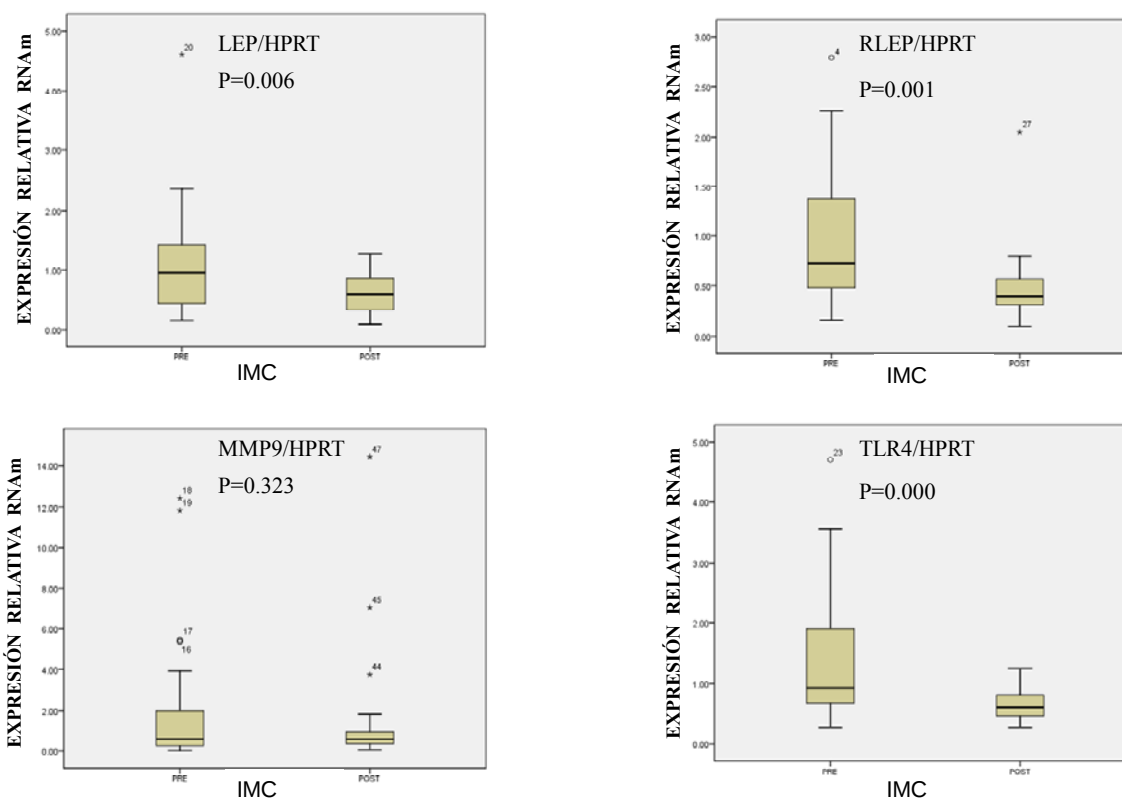
Grafica 5



*EAM Ejercicio aeróbico moderado

En la grafica 5 los genes analizados son IL-1 β , LXR α , UCP3, en la que solo IL-1 β mostro una tendencia a tener una P estadísticamente significativa asociada a efecto de ejercicio después de las 12 semanas que duro el estudio, mientras que LXR α y UCP no tienen una P estadísticamente significativa

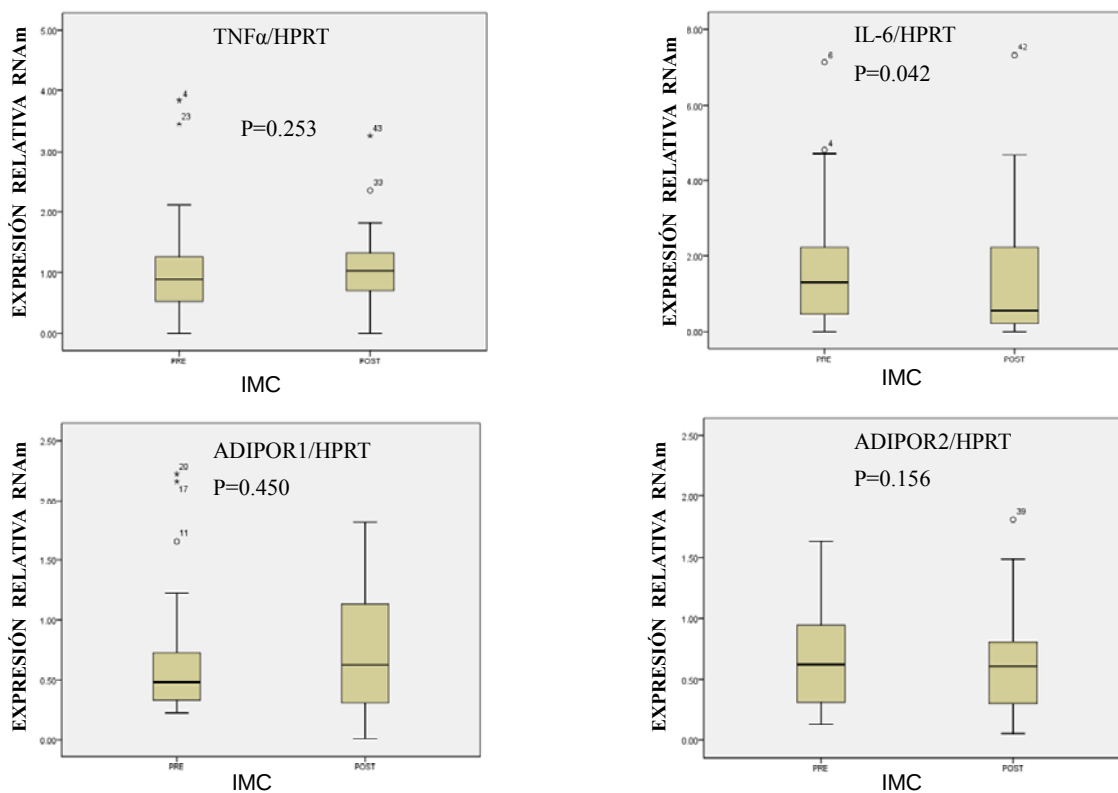
Grafica 6



*Índice de masa corporal

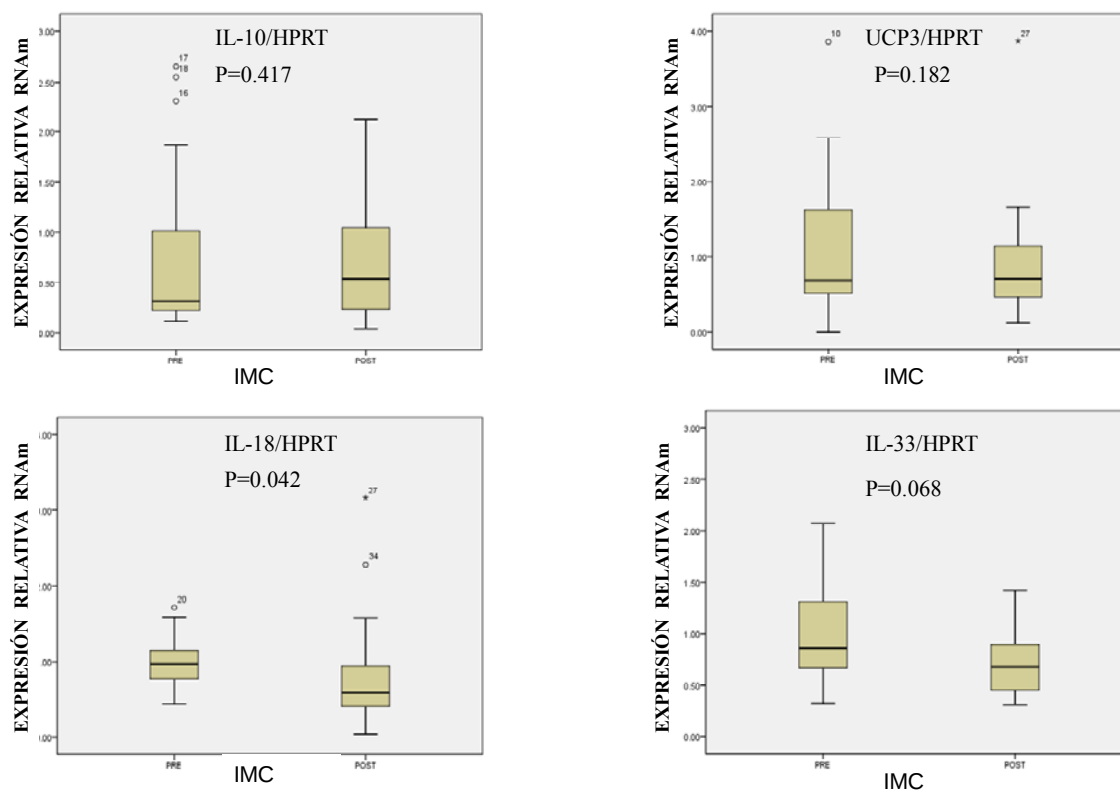
En la grafica 6 los genes analizados son Leptina, Rleptina, MMP9 y TLR4 en la que MMP9 no mostro una P estadísticamente significativa asociada a efecto de ejercicio y el IMC antes y después de las 12 semanas que duro el estudio, mientras que Leptina, RLeptina y TLR4 si tienen una P estadísticamente significativa.

Grafica 7



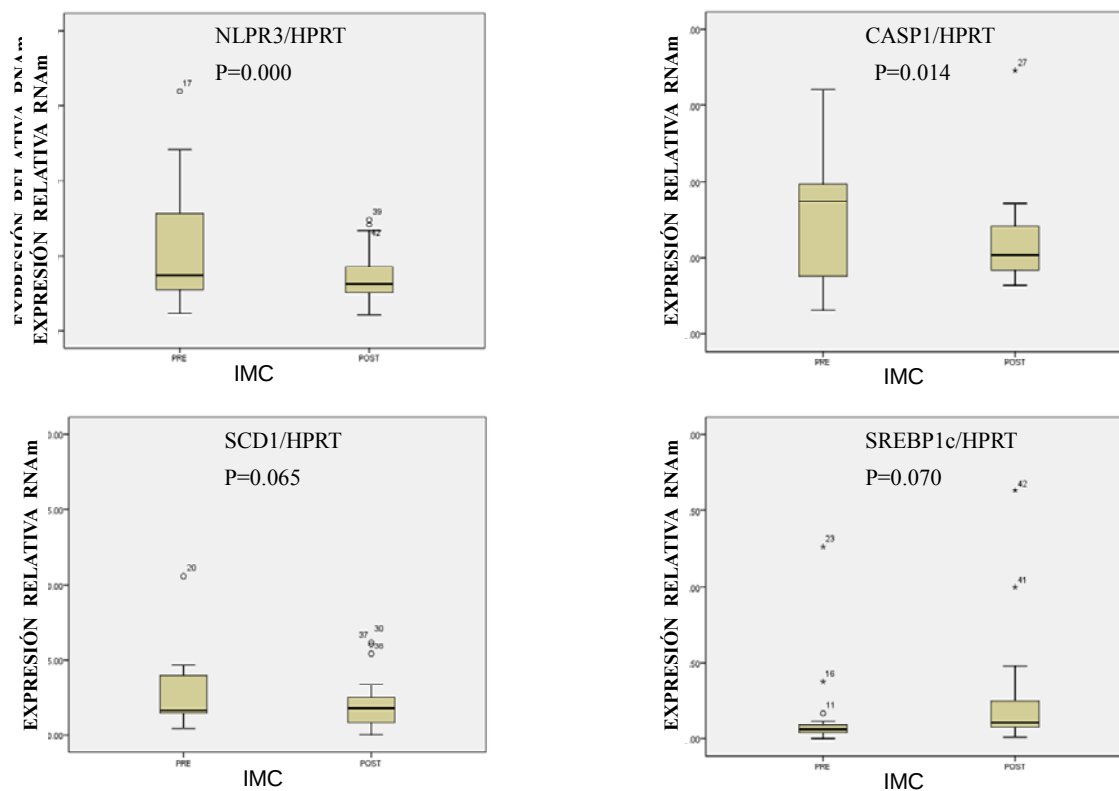
*Índice de masa corporal

En la grafica 7 los genes analizados son TNF α , IL-6, ADIPOR1 Y ADIPOR2 en la que TNF α , ADIPOR1 Y ADIPOR2 no mostraron una P estadísticamente significativa asociada a efecto de ejercicio y el IMC antes y después de las 12 semanas que duro el estudio, mientras que IL-6 si tiene una P = 0.05 estadísticamente significativa mientras que cuando se analizo solo el ejercicio tuvo una tendencia ser estadísticamente significativa.

Grafica 8

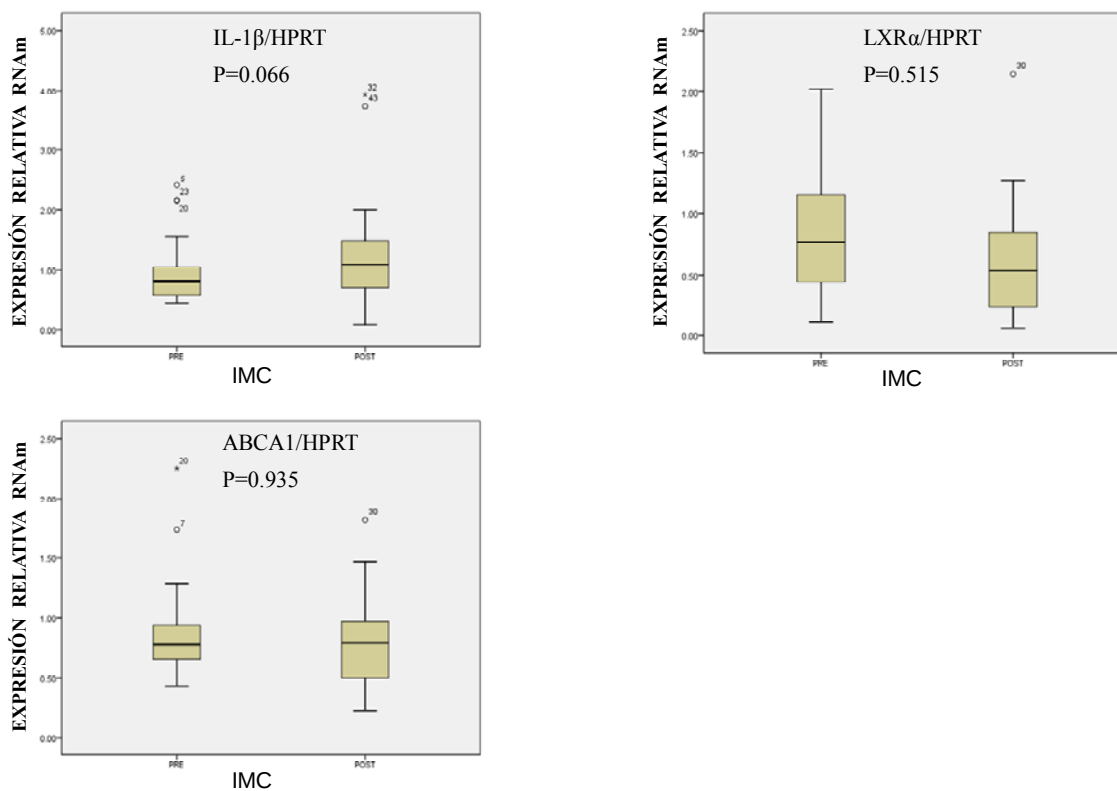
*Índice de masa corporal

En la grafica 8 los genes analizados son IL-10, UCP3, IL-18, IL-33 en la que IL-18 mostro una $P= 0.05$ estadísticamente significativa asociada a efecto de ejercicio y el IMC antes y después de las 12 semanas que duro el estudio, mientras que IL-33 tuvo tendencia a tener una P estadísticamente significativa y IL-10 y UCP3 no fueron estadísticamente significativas.

Grafica 9

*Índice de masa corporal

En la grafica 9 los genes analizados son NLPR3, CASP1, SCD1 Y SREBP1c, en la NLPR3 y CASP1 mostraron una $P= 0.01$ estadísticamente significativa asociada a efecto de ejercicio y el IMC después de las 12 semanas que duro el estudio, mientras que SCD1 y SREBP1c tuvieron una tendencia a tener una P estadísticamente significativa.

Grafica 10

*Índice de masa corporal

En la grafica 10 los genes analizados son IL-1 β , LXR α y ABCA1, en la que IL-1 β mostro una tendencia a ser estadísticamente significativa asociada a efecto de ejercicio y el IMC después de las 12 semanas que duro el estudio, mientras que LXR α y ABCA1 no tuvieron una P estadísticamente significativa.

5.1.1CORRELACIONES

Grafica 11

En la grafica 11 las correlaciones fueron las siguientes: Leptina/ADIPOR2, Leptina/LXR α , Leptina/ABCA1, RLeptina/IL6, en la que Leptina/ADIPOR2, Leptina/LXR α , RLeptina/IL6 tuvieron una $P= 0.01$ ó $P=0.05$ estadísticamente significativa y son correlaciones positivas, lo que indica que si un gen aumenta su expresión el otro también lo

hace, no así para la correlación Leptina/ABCA1 que se acerca demasiado al cero lo que indica que no se correlacionan sin embargo muestra una tendencia a ser estadísticamente significativa.

Grafica 12

En la grafica 12 las correlaciones fueron las siguientes: RLeptina/UCP3, RLeptina/IL-18, RLeptina/IL-33, RLeptina/NLPR3, en la que todas la correlaciones tuvieron una $P=0.05$ estadísticamente significativa y son correlaciones positivas, lo que indica que si un gen aumenta su expresión el otro también lo hace.

Grafica 13

En la grafica 13 las correlaciones fueron las siguientes: MMP9/NLPR3, TLR4/IL-33, TLR4/NLPR3 y TNF α /ADIPOR1 en la que TLR4/IL-33, TLR4/NLPR3 tuvieron una P= 0.05 ó P=0.01 respectivamente y estadísticamente significativa y son correlaciones positivas, lo que indica que si un gen aumenta su expresión el otro también lo hace, no así para la correlación MMP9/NLPR3 y TNF α /ADIPOR1 que solo muestran una tendencia a ser estadísticamente significativa con una P = 0.05.

Grafica 14

En la grafica 14 las correlaciones fueron las siguientes: $TNF\alpha/IL-18$, $IL-6/IL10$, $IL-6/UCP3$ y $ADIPOR1/ADIPOR2$ en la que $IL-6/IL10$, $IL-6/UCP3$ y $ADIPOR1/ADIPOR2$ tuvieron una $P=0.01$ estadísticamente significativa y son correlaciones positivas, lo que indica que si un gen aumenta su expresión el otro también lo hace, no así para la correlación $IL-6/UCP3$ que solo muestran una tendencia a ser estadísticamente significativa con una $P = 0.05$ y es una correlación negativa lo que indica que si un gen aumenta el otro disminuye.

Grafica 15

En la grafica 15 las correlaciones fueron las siguientes: ADIPOR1/IL-10, ADIPOR1/NLPR3, ADIPOR1/CASP1 y ADIPOR2/NLPR3 en la que todos tuvieron una $P=0.05$ estadísticamente significativa y son correlaciones positivas, lo que indica que si un gen aumenta su expresión el otro también lo hace.

Grafica 16

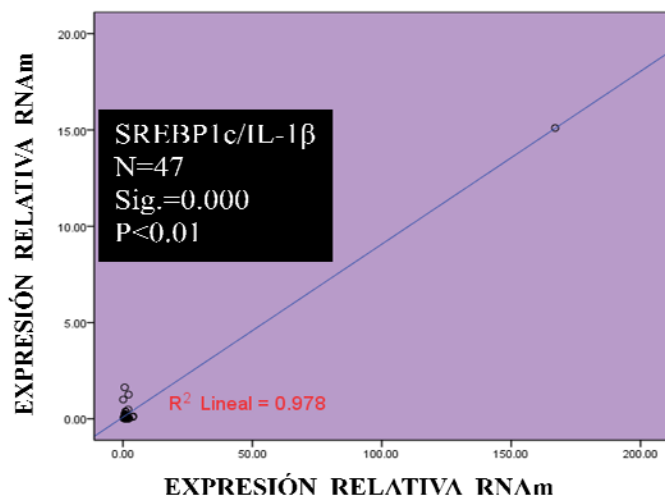
En la grafica 16 las correlaciones fueron las siguientes: ADIPOR2/LXR α , ADIPOR2/ABCA1, IL10/NLPR3 y UCP3/IL-18 y todas las correlaciones tuvieron una P =0.05 y P=0.01 estadísticamente significativa respectivamente y son correlaciones positivas, lo que indica que si un gen aumenta su expresión el otro también lo hace

Grafica 17

En la grafica 17 las correlaciones fueron las siguientes: UCP3/IL-33, UCP3/CASP1, IL-18/NLPR3 y IL-18/CASP1 y todas las correlaciones tuvieron una $P = 0.05$ y $P = 0.01$ estadísticamente significativa respectivamente y son correlaciones positivas, lo que indica que si un gen aumenta su expresión el otro también lo hace.

Grafica 18

En la grafica 18 las correlaciones fueron las siguientes: IL-33/NLPR3, NLPR3/CASP1, SCD1/SREBP1c y SCD1/IL-1 β y todas las correlaciones tuvieron una P =0.05 y P=0.01 estadísticamente significativa respectivamente y son correlaciones positivas, lo que indica que si un gen aumenta su expresión el otro también lo hace.

Grafica 19

En la grafica 19 las correlación fue las siguiente: SREBP1c/IL-1 β la correlación tiene una P=0.01 estadísticamente significativa y la correlación es positiva lo que indica que si un gen aumenta su expresión el otro también lo hace.

VI Discusión y Conclusión

Los genes que resultaron con una P estadísticamente significativa en prueba de t de student no pareadas independientes antes y después del estímulo de ejercicio durante 12 semanas fueron: Lep., LeptinaR, TLR4, IL18, NLPR3, Casp1, estos resultados son muy parecidos a los reportados en la literatura, y los que mostraron una tendencia fueron: IL6, IL33, SCD1, SREBP1c, IL1 β , en los reportes de la literatura que se ha visto que tienen una P

estadísticamente significativa, por lo que en nuestro análisis quizás nos falte ampliarlo en número de pacientes para obtener los resultados obtenidos en base a lo reportado de cómo se comportan estos genes en obesidad y como consecuencia inflamación, los genes que no mostraron una P estadísticamente significativa fueron: MMP9, TNF α , LXR α , ABCA1, UCP3, AdipoR1, AdipoR2, IL10, estos genes no concuerdan con lo reportado en la literatura pues ahí existe una P estadísticamente significativa, sin embargo cuando se correlacionan entre ellos, existen correlaciones con una P estadísticamente significativa y los genes que se correlacionan son los siguientes: Lep-AdipoR2, Lep-LXR α , Lep-ABCA1, LepR-IL6, RLep-UCP3, LepR-UCP3, LepR-IL18, LepR-IL33, LepR-NLPR3, TLR4-IL33, TLR4-NLPR3, IL6-IL10, IL6-UCP3, Adipo1-Adipo2, Adipo1-NLPR3, Adipo1-Casp1, Adipo2-NLPR3, Adipo2-LXR α , Adipo2-ABCA1, IL10-NLPR3, UCP3-IL18, UCP3-IL33, UCP3-Casp1, IL18-NLPR3, IL18-Casp1, IL33-NLPR3, NLPR3-Casp1, SCD1-SREBP1, SCD1-IL1 β , SREBP1-IL1 β , lo que quiere decir que un gen es dependiente del otro y esto es algo de lo que no está reportado en la literatura, otros genes que tuvieron una tendencia a P estadísticamente significativa fueron los siguientes: MMP9-NLPR3, TNF α -AdipoR1, TNF α -IL18, IL6-UCP3, AdipoR1-IL10, AdipoR2-NLPR3. En donde muy probablemente si tuviéramos una N más grande podría ser estadísticamente significativa, por lo que se concluye que los resultados obtenidos en el análisis de los genes propuestos antes y después del ejercicio si bajaron ó aumentaron su concentración con respecto al estímulo del ejercicio durante 12 semanas, con lo que se comprueba que el ejercicio como tratamiento puede ser suficiente para mejorar la salud de la persona que padece esta enfermedad (Obesidad), y prevenir la comorbiliades asociadas a ella, una variable que se puede aumentar es la dieta combinada con el ejercicio y es algo que también puede ser agregado

este tipo de estudios de tal manera que se puedan analizar en conjunto y ver el comportamiento de los genes.

VII BIBLIOGRAFIA REVISAR SISTEMA VANCOUVER DE CITAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Agurs Collins Collins and Bouchard Claude, Gene Nutrition and Gene Physical Activity Interactions in the Etiology of Obesity.
- 2.- K Clement and D Laugin, Regulation of inflamtion related genes in human adipose tissue, Journal of Internal Medicine, 262,422-430.
- 3.- Wereham Nicholas, Young Elizabeth H and Loos Ruth J F, Epidemiological Study designs to Investigate Gene Behavior Interactions in the Context of Human Obesity, nature publishing group, Volume 16 Supplement 3 December 2008, S66-S71.
- 4.-Bouchard Claude, Gene Environment Interactions in the Etiology of Obesity: Defining the Fundamentals, nature publishing group, Volume 16 Supplement 3 December 2008, S5-S10.
- 5.-Dimas Ikeoka, Chirtoph Pachler, Stefan Korsatko, Julia K Mader, Heinz Weinhandl and Thomas R Pieber, Interleukin 6 produced in Subcutaneous adipose tissue is linked to blood pressure control in septic patients, Cytokine (2010), doi 10,1016/j.cyto.2010.02.015.1-8.
- 6.PerBjorntorp,AdiposeTissue,eJIFCC,vol12No3,2000:www.ifcc.org/ejifcc/vol12No3/Adipose.htm.

- 7.- Simon E, Del Barrio, A.S. Leptina y obesidad. *Anales Sis San Navarra* 2002;25 (Supl. 1): 53-64.
- 8.- Cuatrecasas G. La obesidad y sus comorbilidades. *Form. Contin. Nutr. Obes* 2002; 5 (5) 251-5.
- 9.- Braginsky J. Actualización en Obesidad y Diabetes 2001; 1(1) 5-22.
- 10.- Friedman JM. Halaas JL; leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998;395: 763-770.
- 11.- Sinha MK. Sturis J. Ohannesian J, Magosin S, Stephens T, Herman M et al. Ultradian oscillations of leptin secretion in humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;228:733-738.
- 12.-Maurigeri D, Bonanno MR, Speciale S. Santangelo A. Lentinia A. Ruso MS, et al. The leptin a new hormone of adipose tissue: clinical findings and perspectives in geriatrics. *Arch Gerontol Geriatr* 2002; 34: 47-54.
- 13.- Tartaglia LA. The leptin Receptor. *J Biol Chem* 1997; 272: 6093-6096.
- 14.- Chua SC Jr, Cheng WK, Wu-Peng XS, Zhang Y, Luis SM, Tartaglia L, et al. Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due mutations in the OB (leptin). *Science* 1996;271: 994-996.
- 15.- Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carrol KM, Darvishzadeh JG, Lee JL, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996;379: 632-635.
- 16.- Wang MY, Zhou YT, Newgard CB, Unger RH. A novel leptin receptor isoform in rat. *FEBS Lett* 1998;392: 87-90.
- 17.-Fruhbeek G, Intracellular signal pathways activated by leptin. *Biochem J* 2006;393: (Pt 1): 7-20.

- 18.- Bjorback C, Uotani S, Da Silva B, Flier JS, Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J Biol Chem* 1997; 272: 32686-32695.
- 19.- Bjorback C, Kahn BB. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Ree Prong Horm Res* 2004; 59: 305-331.
- 20.- Hileman SM, Pierroz DD, Masuzaki H, Bjorback C, El-Haschimi K, Banks WA, et al. Characterization of short isoformas of the leptin receptor in rat cerebral microvessels and of brain uptake of leptin in mouse models of obesity *Endocrinology* 2002; 143: 775-7863.
- 21.- Løllmann B, Gruninger S, Stricker-krongrad A, Chiesi M. Detection and quantification of the leptin receptor splice variants Ob-Ra,B, and e in different mouse tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;238: 648-652.
- 22.- Lammert A, Kiess W, Botines A, Glasow A, Kratzsch J, Soluble leptin receptor represents the main leptin binding activity in human blood. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 283: 982-988.
- 23.- Chan JL, bluhner S, Yiannakourts N, Suchard MA, Kratzsch J, Mantzoros Cs.Regulation of circulating soluble leptin receptor levels by gender, adiposity, sex steroids, and leptin: observational and anterventional studies in humans. *Diabetes* 2002; 51: 2105-2112.
- 24.- Zabeau L, Lavens D, Peelman F, Eyekerman S, Vandekerekhove J,Tavernier J, The ins and outs of leptin receptor activation. *FEBS Lett* 2003; 546; 445-50.
- 25.- Munzberg H, Myers MG. Molecular anatomical determinants of central leptin resistance. *Nature Neuroset* 2005; 8: 566-570.
- 26.- Kelerrer M, Koch M, Metzinger J, Capp E, Harina HU, Leptin activates P13 kinasa in C2C12 myotubes via Janus kinasa-2 (JAK-2) and insulin receptor substrate-2 (IRS-2) dependent pathways. *Diabetologia* 1997, 40: 1358-1362.

- 27.- Carvalheira JB, Siloto RM, Ignacchitti I, Brenelli SL, Carvalho CR. Insulin modulates leptin-induced STAT3 activation in rat hypothalamus. *FEBS Lett* 2001; 500: 11-124.
- 28.- Carvalheira JB, Torsoni MA, Ueno M, Amaral ME, Araujo EP, Velloso LA, et al. Cross-talk between the insulin and leptin signaling systems in rat hypothalamus. *Obs Res* 2005; 13: 48-57.
- 29.- Miller WC, Koceja DM, Hamilton EJA. Meta-analysis of the past 25 years of weight loss research using diet, exercise or diet plus exercise intervention. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997, 21: 941-947.
- 30.- Pronk NP, Wing RR, Hamilton EJ. Physical activity and long-term maintenance of weight loss. *Obes Res* 1994; 2: 587-591.
- 31.- Kotz CM. Integration of feeding and spontaneous physical activity: role for orexin. *Physiol Behav* 2006, 88: 294-301.
- 32.- Pauli JR, Gomes RJ, Luciano E. Eje hipotálamo-pituitario: Efectos del entrenamiento físico en ratas Wistar con administración de dexametasona. *Rev Neurol* 2006; 42:325-331.
- 33.- Booth FW, Chakravarthy MV, Spangenburg EF. Exercise and gene expression: physiological regulation of the human genome through activity. *J Physiol* 2002; 543:399-411.
- 34.- Xu AW, Kaelin CB, Takeda K, Akira S, Schwartz MW, Barsh GS. P13K integrates the action of insulin and leptin on hypothalamic neurons. *J clin Invest* 2005; 115:951-958.
- 35.- Broadwell RD, Brightman MW. Entry of peroxidase into neurons of the central and peripheral nervous systems from extracerebral and cerebral blood. *J Comp Neurol* 1976; 166: 257-283.

36.-Ramcés Falfán Valencia, factor de necrosis tumoral: Actividad Biológica en neumonías intersticiales, Rev Inst Nal Enf Resp Mex Volumen 15 No 1 enero marzo 2002, 48-53.

37.-Luis Miguel Miranda Garduño y Alfredo Reza Albarran, Obesidad, Inflamación y Diabetes, gac Méd Méx Vol 144 No 1 2008, 39-46.

38.- Luke A. J. O'Neill and Andrew G. Bowie; The family of five: TIR-domain-containing adaptors in toll-like receptor signaling; Nature publishing Group, vol. 7, May 2007, 353-364.

39.-William P. Cawthorn, Jaswinder K. Sethi, TNF- α and adipocyte Biology, FEBS Letter 582 (2008)117-131.

40.- Maria L. urso, Joseph R. Pierce, Joseph A. Alemany, Everet A. Harman, Bradley C. Nindl, Effects of exercise training on the matrix metalloprotease response to acute exercise; Eur J Appl Physiol, 2009, 106: 655-663.

41.- Adrian O'Hara, Fei-Ling Lim, Dawn J. Mazzatti, Paul Trayhurn, Microarray analysis identifies matrix metalloprotenases (MMPs) as key genes expression is up-regulated in human adipocytes by macrophage-conditioned medium; Pflugers Arch Eur J Physiol, 2009, 458: 1103-1114.

42.-Marlene E. Starr, B. Mark Evers, and Hiroshi Saito, Age-associated increase in cytokine production during systemic inflammation: adipose tissue as a major source of IL-6. 2009 Jul;64(7):723-30. E pub 2009 Apr 17.

43.-Odile Poulain Godofroy, Olivier Le Bacquer, Pauline Plancq, Cécile Lecoœur, Francois Pattou and Philippe Froguel, Inflammatory Role of Toll-Like Receptors in Human and

Murine Adipose Tissue, Mediators of Inflammation, Vol 2010, Article ID 823486, doi 10.1155/2010/823486,1-9.

44.- Marc Francaux, Appl. Physiol. Nutr. Metab; Toll-like receptor signalling induced by endurance exercise, 34: 454-458 (2009).

45.- Nathan Zwargerman, Chuck Plumlee; Toll-like receptor-4 and cytokine cascade in stroke after exercise.

46.-Laurence Hoareau, Karima Bencharif, Philippe Rondeau, Ravi Murumalla and Frank Festy, Signaling pathways involved in LPS induced TNF alpha production in human adipocytes, Journal of Inflammation 2010,7;1,1-12.

47.-Ashley M Miller, Darren L Asquith, Axel J Hueber, Lesly Anderson and Foo Y Liew, Interleukin-33 Induces protective Effects in Adipose Tissue Inflammation During Obesity in Mice. Circ. Res. 2010;107;650-658, July 15.

48.-Nathan Zwargerman, chuck Plumlee, Murali Guthikonda and Yuchuan Ding, Toll.Like receptor 4 and cytokine cascade in stroke after exercise, neurological Research 2010, vol 000 No 000.1-4.

49.-Carine Chavey, Bernard Mari, Merie Noelle Monthoul, Stéphanie Bonnafous and Sophie Tartare Deckert, Matrix Metalloproteinases are Differentially Expressed in Adipose Tissue during Obesity and modulate Adipocyte Differentiation, The Journal of Biological Chemistry, Vol 278, No 14, 11888-11896.

50.-Graeme I Lancaster, Qamar Khan, Pam Drysdale, Fiona Wallace, Asker E Jeukendrup, Mark T Drayson and Michael Gleson, The physiological regulation of toll-like receptor expression and function in humans, *J Physiol* 563.3 (2005) pp 945-955.

51.-Arvind Batra, Jeannette Pietsch, Inka Fedke, Rainer Glauben, Besir Okur and Britta Siegmund, Leptin-Dependent Toll-Like Receptor Expression and Responsiveness in Preadipocytes and Adipocytes, *AJP* June 2007, Vol 170, No 6, 1931-1941.

52.- Min Jeong, Kang Ho Kim, Jeong Min Yoon, Jae Bum Kim; Activation of Toll-like receptor 4 is associated with insulin resistance in adipocytes; *Biochemical and Biophysical Research* 346 (2006), 739-745.

53.- Jeremy E. Davis, Nicholas K. Gabler, TLR-4 Deficiency Selectively Protects against Obesity Induced by Diets High in Saturated Fat, 10 April 2008. Doi 10.1038/oby.2008,210.

54.-Jane J. Kim and Dorothy D. Sears, Review Article TLR4 and Insulin Resistance, *Gastroenterology Research and Practice*, Volume 2010 (2010), Article ID 212563, 11 pages, doi:10.1155/2010/212563.

55.- Takayoshi Suganami, Xunmei Yuan, Yurio Shimoda, et al; Activating Transcription Factor 3 Constitutes a Negative Feedback Mechanism That Attenuates Saturated Fatty Acid/Toll-Like Receptor 4 Signaling and Macrophage, 2009; 105; 25-32.

56.-Marius Trosid, Ingebjorg Seljeflot, Harald Arnesen, The role interleukin-18 in the metabolic syndrome, *Cardiovascular Diabetology* 2010, 9:11.

57.-Eric P. Zorrilla, Manuel Sanchez Alavez, Shuei Sugama, Molly Brennan, Rosette Fernandez, Tamas Bartfai and Bruno Conti. Interleukin-18 controls energy homeostasis by

suppressing appetite and feed efficiency, PNAS, June 26, 2007, Vol. 104, No 26, 11097-11102.

58.-Dominique Talabot-Ayer, Céline Lamacchia, Cem Gabay and Gaby Palmer, Interleukin-33 is Biologically Active Independently of Caspase-1 Cleavage. *J Biol Chem* 2009, July 17, 284(29): 19420-19426.

59.-Juying Li, Helen L. Yin and junying Yuan, Flightless-1 regulates proinflammatory caspasas by selectively modulating intracellular localization and caspasa activity, *The Journal of Cell Biology*, Vol 181, No 2, April 21, 2008, 321-333.

60.-Thiago M Cunha, Jhimmy Talbot, Larissa G Pinto, Silvio M Viera and Fernando Q Cunha, Caspase-1 is involved in the genesis of inflammatory hypernociception by contributing to peripheral IL-1 β maturation, *Molecular Pain* 2010, 6:63.

61.-Marius Troseid, Ingebjorg Selieflot, Harald Arnesen, The role interleukin-18 in the metabolic syndrome, *Cardiovascular Diabetology* 2010, 9:11.

62.-Eric P. Zorrilla, Manuel Sanchez Alavez, Shuei Sugama, Molly Brennan, Rosette Fernandez, Tamas Bartfai and Bruno Conti. Interleukin-18 controls energy homeostasis by suppressing appetite and feed efficiency, PNAS, June 26, 2007, Vol. 104, No 26, 11097-11102.

96.-Dominique Talabot-Ayer, Céline Lamacchia, Cem Gabay and Gaby Palmer, Interleukin-33 is Biologically Active Independently of Caspase-1 Cleavage. *J Biol Chem* 2009, July 17, 284(29): 19420-19426.

63.-Juying Li, Helen L. Yin and junying Yuan, Flightless-1 regulates proinflammatory caspasas by selectively modulating intracellular localization and caspasa activity, *The Journal of Cell Biology*, Vol 181, No 2, April 21, 2008, 321-333.

64.-J. Mark Brown, PhD, Soonkyu Chung, PhD, Janet K. Sawyer, Ms, Chiara Degirolamo, PhD, and Lawrence L. Rudel, PhD. Inhibition of Stearoyl-CoA Desaturase1 (SCD1) Dissociates Insulin Resistance and Obesity From Atherosclerosis. NIH Public Access Author manuscript 2008 September 30; 118(14): 1467-1475.

65.-Seung-Soon IM, Sool-Ki Kwon, Seung-Yong Kang, Tae-Hyun Kim, Ha-II Kim, Man-Wook Hur, Kyung-Sup Kim and Yong-Ho Ahn, Regulation of Glut4 gene expression by SREBP-1c in adipocytes, *Biochem J* (2006) 399, 131-139.

66.-Dominique Talabot-Ayer, Céline Lamacchia, Cem Gabay and Gaby Palmer, Interleukin-33 is Biologically Active Independently of Caspase-1 Cleavage. *J Biol Chem* 2009, July 17, 284(29): 19420-19426.

67.-Thiago M Cunha, Jimmy Talbot, Larissa G Pinto, Silvio M Viera and Fernando Q Cunha, Caspase-1 is involved in the genesis of inflammatory hypernociception by contributing to peripheral IL-1 β maturation, *Molecular Pain* 2010, 6:63.

68.-Soyoung Kim, Yoojeong Jin, Youngshim Choi, Taesun Park, Resveratrol exerts anti-obesity effects via mechanisms involving down-regulation of adipogenic and inflammatory processes in mice, *Biochemical Pharmacology* 81 (2011) 1346-1351..

inflammatory processes in mice, *Biochemical Pharmacology* 81 (2011) 1346-1351..

69.-Mohamed Lamkanfi, Thirumala Devi Kanneganti, Nlpr3 an immune sensor of cellular stress and infection, *J Biochem Cell Biol* (2010) doi:10.1016/j.biocel.2010.01.008.

70.-Graham P. Cook, Sinisa Savic, Miriam Wittmann and Michael F. McDermott, The NLPR3 inflammasome, a target for therapy in diverse disease states, *Eur. J. Immunology*. 2010. 40:595-653.

- 71.-Jenny P. Y. Ting, Joseph A. Duncan, Yu Lei, How the Noninflammasome NLRs Function in the Innate Immune System, 15 January 2010, vol 327, Science, 286-290.
- 72.- Giamila Fantuzzi, PhD Chicago, III, Adipose tissue, adipokinas, and inflammation, 2005 American Academy of Allergy.Asthma and Immunology, doi: 10.1016/j.jaci.2005.02.023.
- 73.-Membrez Mathieu, Ammon-Zufferey Corinne, Philippe David, Aprikian Olivier, Monnard Irina, Macé Katherine and Darimont Christian, Interleukin-18 Protein Level Is Upregulated in Adipose Tissue of Obese Mice, Obesity, vol. 17 Number 2,, February 2009, 393-395.
- 74.-Bruun Jens M, Stallknecht Bente, W. Helge Jorn and Richelsen, Interleukin-18 in plasma and adipose tissue: effects of obesity insulin resistance, and weight loss, European Journal of Endocrinology, 2007, 157, 465-471.
- 75.-Yang Yi-Sheng, Li Xiao-Ying, Hong Jie, Gu Wei-Qiong, Zhang Yi-Fei, Interleukin-18 enhances glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes, Endocr, February 2008, 32:297-302.
- 76.-Dinarello Charles A, Interleukin-18 and the Pathogenesis of Inflammatory Diseases, Seminars in Nephrology, vol 27, No 1, January 2007, pp 98-114.
- 77.-Osborn Olivia, Gram Hermann, Zorrillar Eric P, Conti Bruno, Tantas Bartfai, Insights into the roles of the inflammatory mediators IL-1, IL-18 and PGE in obesity and insulin resistance, Swiss Med Wkly 2008;138 (45-46): 665-673.
- 78.-Wood I Stuart, Wang Bohan, Paul Trayhurn, IL-33, a recently interleukin-1 gene family member, is expressed in human adipocytes, Biochemical and Biophysical Research Communications 384 (2009) 105-109.
- 79.- Keisuke Oboki, Susumu Nakae, Kenji Matsumoto, and Hirohisa Saito, IL-33 and Airway Inflammation, Allergy Asthma Immunol Res. 2011 April; 3(2): 81-88.

- 80.-Hal M. Hoffman, Alan A. Wanderer, Inflammasome and IL-1 β -mediated Disorders, *Curr Allergy Asthma Rep* (2010) 10:229-235.
- 81.-Chad M. Paton and James M. Ntambi, Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase, *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009 July; 297(1): E28–E37.
- 82.-Jiang Guoqiang Li Zhihua, Liu Franklin, Ellsworth Kenneth, Dallas-Yang Qing, and Zhang Bei B, Prevention of obesity in mice by antisense oligonucleotide inhibitors of stearoyl-CoA desaturase-1, *The Journal of Clinical Investigation*, Vol 115, Number 4, April 2005, 1030-1038.
- 83.-Paton Chad M, Ntambi James M, Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase, *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009 July; 279 (1): E28-E37.
- 84.- Ntambi James M, Miyazaki Makoto, Stoeckl Jonathan P, Lan Hong Kendziora Christina M and Attie Alan D, Loss of stearoyl-CoA desaturase-1 function protects mice against adiposity, *PNAS*, August 20,2002, Vol. 99, No 17, 11482-11486.
- 85.-Shimano Hitoshi, Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): transcriptional regulators of lipid synthetic genes, Review, *Progress in lipid Research* 40, 2001, 439-452.
- 86.-Giusti M, Suter M, Verdumo C, Gaillard R C, Burckhardt P, Pralong F P, Molecular Determinants of human adipose tissue: Differences between visceral and subcutaneous compartments in obese women, *J clin Endocrinol Metab*, March 2004, 89 (3); 1379-1384.
- 87.-Muller-Wieland Dirk and Kotzka Jorg, SREBP-1: Gene Regulatory key to syndrome X?, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 967: 19-27 (2002).
- 88.- Shimano Hitoshi, Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): transcriptional regulators of lipid synthetic genes, Review, *Progress in lipid Research* 40, 2001, 439-452.

- 89.-Horton J D, Sterol regulatory element-binding proteins: transcriptional activators of lipid synthesis, *Biochemical Society Transactions* (2002) Vol. 30, part 6, 1091-1095.
- 90.-Raghow Rajendra, Yellaturu Chandrasasa, Deng Xioong, Park Edwards A and Elam Marshall B, SREBPs: the crossroads of physiological and pathological lipid homeostasis, Review, *Trends in Endocrinology and Metabolism*, Vol. 19, No 2, 65-73.
- 91.- Jager Jennifer, Grémeaux Thierry, Cormont Mirreille, Le Marchand-Bructel Yannick and Tanti Jean-Francois, Interleukin-1 β -induced insulin resistance in adipocytes through down-regulation of insulin receptor substrate-1 expression, *Endocrinology*, 2007 January; 148 (1): 241-251,
- 92.-Jager Jennifer, Grémeaux Thierry, Gonzalez Teresa, Bonnafoos Stéphanie, Debard Cyrille and Tanti Jean-Francois, T β 12 kinase is upregulated in adipose tissue in obesity and may mediate interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α effects on extracellular signal-regulated kinase activation and lipolysis, *Diabetes*, Vol. 59, January 2010, 61-70.
- 93.-Osborn O, Brownell Se, Sanchez-Alvarez M, Salomon D, Gram H and Bartfai, Treatment with an interleukin 1 β antibody improves glycemic control in diet induced obesity, *Cytokine* 2008, October; 44 (1): 141-148. Doi:10.1016/j.cyto.2008.07.004.
- 94.-HEK-Blue IL-1 β Cells, Catalog # hkb-il1 β , version # 11C23-MM.
- 95.-Stutz Andrea, Golenbock Douglas T and Latz Eicke, Inflammasomes: too big to miss, *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 119, No 12, December 2009, 3502-3511.
- 96.-Horng Tiffany and Hotamisligil Gokhan, Linking the inflammasome to obesity-related disease, *Nature Medicine*, Vol. 17, No 2, February 2011, 164-165.
- 97.-Vandanmagsar Bolormaa, Youm Yun-Hee, Ravussin Anthony, Galgani Jose E, Stadler Krisztian and Deep Dixit Vishwa, The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced

inflammation and insulin resistance, *Nature Medicine*, Vol. 17, No 2 February 2011 179-189.

98.-Schroder Kate, Zhou Rongbin and Tscopp, The NLPR3 inflammasome: A sensor for metabolic danger, Review, *Science*, 15 January 2010, vol. 37, 296-300.

99.-Al-Hasani Hadi and Joost Hans-Georg, Nutrition-/diet-induced changes in gene expression in white adipose tissue, *Best Practice*, 2005, Vol. 19, No 4, 589-603