

Macrófagos, inflamación, tejido adiposo, obesidad y resistencia a la insulina

Raúl A. Bastarrachea,^{a*} Juan Carlos López-Alvarenga,^a Victoria Eugenia Bolado-García,^b Jorge Téllez-Mendoza,^c Hugo Laviada-Molina^d y Anthony G. Comuzzie^a

^aDepartment of Genetics, Auxology and Metabolism Working Group Southwest Foundation for Biomedical Research, San Antonio, Texas, Estados Unidos de América

^bServicio de Medicina Interna, Hospital General Regional "Gabriel Mancera", Instituto Mexicano del Seguro Social, México D.F., México

^cDepartamento de la Licenciatura en Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Méx., México

^dDepartamento de Nutrición Humana y Trastornos del Metabolismo, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yuc., México

Recibido en su versión modificada: 14 de abril de 2007

Aceptado: 11 de septiembre de 2007

RESUMEN

La obesidad se asocia con un estado inflamatorio implicado en el desarrollo de aterosclerosis y resistencia a la insulina. Los macrófagos son claves en la génesis de estos procesos. La obesidad induce la acumulación de macrófagos en el tejido adiposo. Los macrófagos producen muchas de las moléculas inflamatorias secretadas por el tejido adiposo. Las proteínas quimioatrayentes de monocitos (MCP) y sus receptores son fundamentales en la respuesta inflamatoria y en el reclutamiento de células inmunes en sitios de inflamación. La expresión en el tejido adiposo de una MCP, la quimiocina del ligando 2 del motif C-C (CCL2 o MCP1), está incrementada en proporción a la adiposidad. El receptor 2 de quimiocina del motif C-C (CCR2) regula el reclutamiento y quimiotaxis de monocitos y macrófagos, es necesario para las respuestas inflamatorias dependientes de macrófagos y para el desarrollo de aterosclerosis. Ya que el receptor CCR2 regula las respuestas inflamatorias locales, se ha postulado que las MCP, actuando a través de su receptor CCR2, podrían regular la inflamación inducida por la obesidad en el tejido adiposo. Este documento se enfoca en dilucidar los mecanismos moleculares y genéticos que permiten reclutar y retener macrófagos en el tejido adiposo.

Palabras clave:

Adipocito, macrófago, inflamación, disfunción endotelial, resistencia a la insulina, MCP1

SUMMARY

Obesity is associated with a complex systemic inflammatory reaction that has been associated with the development of atherosclerosis and insulin resistance. Obesity also induces macrophage accumulation in adipose tissue. Macrophages produce many of the pro inflammatory molecules released by adipose tissue and have been implicated in the development of obesity-induced adipose tissue inflammation. Monocyte chemoattractant proteins (MCPs) and their receptors play key roles in the development of inflammatory responses and are crucial for the recruitment of immune cells towards inflammation sites. Adipose tissue expression of at least 1 MCP, C-C motif chemokine ligand-2 (CCL2 or MCP1), increases in proportion to adiposity. The C-C motif chemokine receptor-2 (CCR2) regulates monocyte and macrophage recruitment and is necessary for macrophage-dependent inflammatory responses and the development of atherosclerosis. Because CCR2 regulates monocyte and macrophage chemotaxis and local inflammatory responses, it has been hypothesized that monocyte chemoattractant molecules acting through CCR2 might regulate obesity-induced inflammation in adipose tissue. Our study focuses on the molecular and genetic mechanisms that recruit and retain macrophages in adipose tissue.

Key words:

Adipocyte, macrophage, inflammation, endothelial dysfunction, insulin resistance, MCP1

Introducción

La teoría más aceptada y unificada para describir la fisiopatología del síndrome metabólico^{1,2} es la resistencia a la insulina.³ La resistencia a la insulina se acompaña de muchas otras alteraciones⁴ como incremento en la concentración de apo-B y C-III, ácido úrico, factores protrombóticos (fibrinógeno, inhibidor del activador de plasminógeno-1 [PAI-1 por sus siglas en inglés]), viscosidad plasmática, dimetilarginina asimétrica, homocisteína, cuenta total de leucocitos

en la sangre, citocinas proinflamatorias, presencia de microalbuminuria, enfermedad de hígado graso no alcohólico o esteatohepatitis no alcohólica, síndrome obstructivo de apnea del sueño y enfermedad de ovarios poliquísticos, todos asociados con resistencia a las acciones de la insulina y la hiperinsulinemia compensatoria.⁵

Los defectos en la acción de la insulina sobre el metabolismo de la glucosa han sido caracterizados e incluyen una deficiencia en la habilidad de la hormona para suprimir la producción hepática y renal de glucosa, y mediar la captación

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Raúl A. Bastarrachea. Department of Genetics Southwest Foundation for Biomedical Research 7620 NW Loop 410 at Military Drive, San Antonio, Texas, USA. Tel.: 78227-5301. Correo electrónico: raulbs@sfbgenetics.org

y el metabolismo de la glucosa en tejidos insulinosensibles (por ejemplo, músculo y tejido adiposo). Uno de los factores más importantes que contribuyen al desarrollo de resistencia a la insulina es el exceso de ácidos grasos circulantes.⁶ Estos ácidos grasos libres unidos a la albúmina plasmática provienen principalmente de los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo, y son secretados a la circulación a través de la acción enzimática de la lipasa sensible a hormona, que a su vez depende del AMP cíclico.⁷ Cuando la insulina alcanza los tejidos blanco, el exceso de ácidos grasos libres ocasiona resistencia a su acción fisiológica debido al exceso de disponibilidad de sustrato, cuyo efecto se traduce en alterar la señalización de la cascada intracelular y la expresión molecular de los genes bajo su control.⁸

El objetivo de este documento se encamina a presentar los hallazgos más recientes sobre los mecanismos moleculares y genéticos que permiten reclutar y retener macrófagos en el tejido adiposo. A través de estos hallazgos se presentará la evidencia que vincula la biología y la función coordinada entre las vías inflamatorias y metabólicas, así como la hiperactivación del sistema inmune en el tejido graso, a través de sustancias bioactivas expresadas por macrófagos, principalmente MCP1 y su receptor CCR2. Estos conceptos explican las bases celulares de la disfunción endotelial y las alteraciones en el metabolismo de la glucosa secundarias a resistencia a la insulina. También se analizará cómo los aspectos básicos moleculares y genómicos se traducen en una fisiopatología orientada a sus aplicaciones clínicas futuras.

Vías moleculares proinflamatorias generadoras de resistencia a la insulina en la obesidad

En años recientes se ha postulado que la activación crónica de las vías proinflamatorias puede ser un mecanismo de la resistencia a la insulina. Varios estudios han implicado a la activación crónica de la vía proinflamatoria del factor nuclear kappa beta (NF- κ B) y de la cinasa aminoterminal c-Jun-1 (JNK1 por sus siglas en inglés), como los mecanismos subyacentes. La mayoría de estos estudios han enfocado la activación de estas vías en los tejidos blanco de la insulina (tejido adiposo, hígado y músculo) como un mecanismo celular etiológico. Varias cinasas de serina/treonina son activadas por estímulos inflamatorios o de estrés y contribuyen a la inhibición de la señalización de insulina, siendo las más relevantes la JNK, el inhibidor de NF- κ B cinasa (IKK), y PKC- θ .⁹

Los tres miembros del grupo de cinasas de serina/treonina JNK, JNK1, 2 y 3, pertenecen a la familia de las cinasas proteicas activadoras de la mitogénesis (MAPK por sus siglas en inglés) y regulan múltiples actividades para el desarrollo y la función celular, principalmente por su habilidad sobre el control de la transcripción a través de inducir fosforilación de las proteínas activadoras que incluyen c-Jun y JunB.¹⁰ La JNK recientemente ha sido considerada uno de los principales reguladores metabólicos centrales, así como un elemento primordial en el desarrollo de la resistencia a la insulina en la obesidad.^{11,12} En la obesidad es posible detectar una sobre-

expresión de esta cinasa proinflamatoria, siendo que la actividad de la JNK se encuentra incrementada en el hígado, músculo y tejido graso. En roedores, la falta de activación o pérdida de la función del gen que expresa JNK1 previene el desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes tanto en modelos genéticos de obesidad, como en roedores obesos sobrealimentados con dietas hipercalóricas.¹¹ Estudios recientes en roedores han demostrado que la inhibición de JNK en estos animales que presentan diabetes o aterosclerosis puede ser una opción terapéutica viable para estas enfermedades en humanos.¹³

Otras dos cinasas proinflamatorias que también desempeñan un papel categórico en inhibir las acciones de la insulina, particularmente en respuesta a la presencia de metabolitos lipídicos, son el complejo NF- κ B-IKK y PKC- θ . Se ha observado que la infusión de lípidos da lugar a elevación en los niveles de metabolitos intracelulares de ácidos grasos, como el diacilglicerol (DAG) y acil-CoAs. La elevación de estos metabolitos lipídicos se correlaciona directamente con la activación de PKC- θ y con aumento en la fosforilación de serina 307 del IRS1, pasos metabólicos moleculares que dan lugar a inhibición de la señalización del receptor de insulina.¹⁴ La PKC- θ también impide la señalización del receptor de insulina a través de la activación de otras cinasas de serina/treonina como IKK β o JNK.¹⁵ La IKK β afecta la señalización de la insulina a través de al menos dos vías: la fosforilación del IRS1 en los residuos de serina 307;¹⁶ y en segundo lugar, activa el potente factor de transcripción proinflamatorio NF- κ B, que estimula la producción de múltiples mediadores inflamatorios incluyendo a TNF- α e IL6.¹⁷ Aunque los mecanismos moleculares por los que la obesidad causa resistencia a la insulina a nivel muscular son muy amplios, no es el tema que nos ocupa y sólo se han mencionado para categorizar la importancia de las vías proinflamatorias NF- κ B, JNK y PKC- θ en alterar la vía de señalización de la insulina, y concatenarlas con la presencia de macrófagos en el tejido adiposo, para poder efectuar la vinculación de los sistemas inflamatorios y los sistemas metabólicos.

Macrófagos y adipocitos

En fechas recientes se ha acumulado evidencia sobre el papel del tejido adiposo en el desarrollo del estado inflamatorio sistémico que contribuye a los riesgos cardiovasculares y a la vasculopatía asociados con obesidad. Los adipocitos estimulados por señales de origen infeccioso o inflamatorio secretan muchos reactantes de fase aguda y mediadores de la inflamación, que incluyen TNF- α , PAI-1, MCP1, IL1 β , IL6, IL8, IL10, IL15, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento del hepatocito, SAA3, factor inhibitorio de la migración de macrófagos, haptoglobina, factores de complemento B, D, C3, prostaglandina E2 y moduladores inflamatorios potentes como la leptina, la adiponectina y la resistina.¹⁸

Además de los adipocitos, el tejido adiposo contiene fibroblastos, preadipocitos, macrófagos que residen en este tejido, y constituyentes vasculares. Se sabe que los macrófagos son contribuyentes cruciales en el proceso inflamatorio

sistémico general. Los macrófagos han sido implicados también en el desarrollo y mantenimiento de la inflamación inducida por la obesidad en el tejido adiposo, y producen muchas de las moléculas proinflamatorias secretadas por el tejido adiposo. Es de notar que existe una conexión obvia entre el nivel de coordinación de las vías inflamatorias y metabólicas, destacándose por la coincidencia entre la biología y la función de los macrófagos y adipocitos en la obesidad.¹⁹ La expresión genética de ambas células es similar: los macrófagos expresan la mayoría de los productos proteicos genéticos del adipocito, como las proteínas transportadoras de ácidos grasos (FABP-aP2 por sus siglas en inglés) y el PPAR γ , mientras que los adipocitos pueden expresar muchas proteínas que podrían considerarse exclusivas de genes proinflamatorios de macrófagos, tales como TNF- α , IL6 y metaloproteinasas de la matriz (MMP por sus siglas en inglés). La habilidad funcional de estos dos tipos de células también coincide y se sobrepone. Los macrófagos pueden atraer, englobar y almacenar lípidos para convertirse en células espumosas ateroscleróticas. Los preadipocitos bajo ciertas circunstancias pueden presentar propiedades fagocíticas y antimicrobianas, y pueden tener la capacidad de diferenciarse en macrófagos en un medio ambiente propicio, lo que sugiere un papel inmunológico potencial de estos preadipocitos.¹⁹ Más aún, se ha podido documentar que los macrófagos y los adipocitos se localizan juntos en el tejido adiposo excesivo característico de la obesidad. Estos hallazgos indican que la obesidad se caracteriza por una acumulación de macrófagos en el tejido adiposo, y agregan una nueva dimensión en la manera como debemos entender e interpretar la génesis de la obesidad y su fuerte relación con los procesos inflamatorios que ocurren simultáneamente en el tejido adiposo. Los macrófagos en el tejido adiposo definitivamente contribuyen a la producción de mediadores inflamatorios en conjunto con los adipocitos, lo que sugiere una potencial e importante influencia de dichos macrófagos en promover resistencia a la insulina.¹⁹

Con base en análisis inmunohistoquímicos, se ha documentado la presencia de células endoteliales, células del estroma, células sanguíneas y macrófagos en tejido mamario y tejido adiposo visceral de humano.²⁰ Se ha podido documentar también que la población de macrófagos residentes constituye un importante componente de la fracción vascular del estroma, ya que estos macrófagos pueden ser identificados en muestras de tejido adiposo subcutáneo y en tejido adiposo visceral.²¹ Los macrófagos tisulares realizan varias funciones, tales como protección contra microorganismos. También ejercen actividades citotóxicas contra células tumorales y regulan la homeostasis local a través de la producción de factores de crecimiento y citocinas. En efecto, estos macrófagos se encuentran presentes en tumores humanos donde al parecer promueven la angiogénesis tumoral, residiendo también en las placas ateroscleróticas donde son importantes para la acumulación nociva intracelular de lípidos, la formación de células espumosas y la modulación de la función de crecimiento vascular y celular.^{22,23} Ya que se ha podido determinar que el número de macrófagos presentes en el tejido adiposo correlaciona positivamente con el índice de masa corporal, se podría

también especular que estos macrófagos podrían contribuir al crecimiento de la masa grasa corporal, en forma similar a la descrita en la angiogénesis tumoral.

Esta correlación entre la cantidad de macrófagos residentes en el tejido adiposo y la obesidad ha sido encontrada en varios modelos murinos de obesidad, encontrándose también en tejido adiposo subcutáneo humano.^{24,25} La infiltración a los tejidos de monocitos circulantes es un fenómeno complejo que involucra varios pasos que incluyen la activación del endotelio capilar, la expresión aumentada de las moléculas de adhesión, como el ICAM1, la adhesión de monocitos circulantes seguida de su trasmigración a través del endotelio y su diferenciación en macrófagos. Tal parece que los adipocitos humanos, mediante la producción de factores solubles estimula la diapédesis de los monocitos sanguíneos. Dicha diapédesis se relaciona con la activación de las células endoteliales capilares derivadas del tejido adiposo y con incremento en la expresión de la ICAM1 y PECAM1. Concentraciones elevadas en plasma de las moléculas de adhesión solubles celulares (E-selectin, VCAM1, ICAM1 y el factor de von Willebrand) han sido informadas en individuos con sobrepeso y obesidad, sugiriendo que el incremento de la masa grasa corporal se asocia con una activación endotelial sistémica temprana.^{26,27} Por lo anterior, se puede aducir que son los factores derivados de los adipocitos liberados a la circulación sistémica los que desempeñan un papel primordial en la activación de las células endoteliales.^{26,28,29} Entre las adipocitocinas que se han informado producidas por el tejido adiposo, se encuentran factores inflamatorios tales como la IL8 y TNF- α , y, de mayor importancia para poder interpretar el proceso inflamatorio en el tejido adiposo,^{30,31} factores quimiotácticos atrayentes de monocitos y macrófagos tales como MCP1, MIP1 y GM-CSF (*granulocyte macrophage colony stimulating factor* por su significado en inglés).^{27,32}

Papel de MCP1 y CCR2

Las proteínas quimioatrayentes de monocitos (MCP por sus siglas en inglés) y sus receptores son cruciales en el desarrollo de la respuesta inflamatoria y en el reclutamiento de células inmunes a los sitios de inflamación. En roedores y humanos obesos, la expresión en el tejido adiposo de al menos una MCP1, el ligando 2 de quimiocina del motif C-C (CCL2 o MCP1), está incrementada en proporción a la adiposidad. Tanto su expresión en el tejido adiposo como las concentraciones circulantes de MCP1 se encuentran aumentadas en la obesidad y disminuyen después de un tratamiento con tiazolidinedionas.^{33,34} Estudios recientes implican al MCP1 y a su receptor CCR2 en la regulación de la función de los adipocitos. Estos estudios encontraron que MCP1 inhibe la captación de glucosa estimulada por insulina, así como la expresión de genes metabólicamente importantes como serían Glut4, PPAR γ y FABP4 en líneas celulares de adipocitos en roedores.³⁵ CCR2 es un receptor para varias MCP, incluyendo CCL8 (MCP2) y CCL7 (MCP3),³⁶ y es necesario para el reclutamiento de monocitos/macrófagos en modelos murinos de aterosclerosis, artritis reumatoide e infecciones micobacterianas.³⁷

Actualmente la MCP1 ha sido agregada a la creciente lista de adipocitocinas. Se ha demostrado que es producida por macrófagos y células endoteliales a través de la activación del factor de transcripción nuclear $\kappa\beta$. La MCP1 recluta monocitos, leucocitos y otras células inflamatorias en respuesta a un estímulo inflamatorio. La MCP1 circulante se ha encontrado elevada en modelos animales con obesidad (ratones ob/ob y ratones con obesidad inducida por dieta) en comparación con compañeros de camada delgados, encontrándose también que disminuye después de una pérdida de peso. En humanos, la MCP1 circulante se ha asociado con enfermedad cardiovascular y está elevada en los pacientes con diabetes tipo 2 comparados con personas sin diabetes. Estudios recientes han podido dilucidar que los niveles de mRNA de la MCP1 en el tejido adiposo humano se correlacionan con diferentes grados de adiposidad (a mayor adiposidad, mayor cantidad de mRNA de MCP1), y que la MCP1 circulante disminuye después de la pérdida de peso en sujetos con obesidad severa.^{32,35}

Existe evidencia sólida que sugiere que los procesos inflamatorios se encuentran involucrados en la patogénesis de la aterosclerosis y la enfermedad cardiovascular. El bloqueo de la expresión génica de MCP1 por medio de la transfección de una delección mutante de la porción N-terminal del gen *MCP1* disminuye dramáticamente la progresión a la aterosclerosis en ratones mutantes a los que también se les ha eliminado por *knock-out* genético el gen que expresa la apolipoproteína E. Los roedores mutantes *ApoE*^{-/-} son extremadamente propensos a desarrollar enfermedad cardiovascular severa. Estos roedores mutantes *ApoE*^{-/-} son un modelo experimental de aterosclerosis. El gen de la apolipoproteína E (*ApoE*) se ha considerado protector en el desarrollo de aterosclerosis. Por lo anterior, en ratones con doble eliminación (*knock-out*) de los genes *MCP1* y *ApoE* existe protección para el establecimiento de la placa aterosclerótica, obviamente favorecida por la ausencia en la expresión de MCP1.³⁸

En ratones con obesidad inducida por dieta se encontraron niveles elevados de MCP1 asociados con aumento en los monocitos activados y en la captación de LDL oxidadas en monocitos a través de la activación de los receptores carroñeros (*scavengers*), confirmando la hipótesis de que MCP1 puede desempeñar un papel importante en el proceso aterosclerótico dentro de la pared del vaso. Experimentos *in vitro* mostraron que niveles elevados de glucosa (e⁺ 35 mM) incrementan la producción de MCP1 en células endoteliales humanas, evidenciándose también que la MCP1 bloquea la captación de glucosa estimulada por insulina en la cepa de adipocitos 3T3-L1, hecho que sugiere una participación directa de la MCP1 en la resistencia a la insulina relacionada con obesidad.^{39,40}

Es importante entender cómo un aumento progresivo en la masa grasa corporal da lugar al reclutamiento de células inmunes hacia el tejido adiposo. El primer aspecto a considerar es que la MCP1 (CCL2), al ser un potente quimioatrayente para los monocitos, es producida también en el tejido adiposo y su expresión va en aumento en paralelo con el incremento en la cantidad de grasa corporal. Este hecho sugiere que la MCP1 podría ser la proteína más importante para el recluta-

miento de monocitos en el tejido adiposo. El segundo aspecto es la actividad y expresión del receptor específico para MCP1 denominado CCR2. Los ratones a los que se les ha eliminado genéticamente la expresión de CCR2 están protegidos parcialmente en desarrollar resistencia a la insulina inducida por dieta alta en grasa, y exhiben reducciones en el reclutamiento de macrófagos hacia el tejido adiposo y en la expresión de genes proinflamatorios.⁴¹ También es interesante mencionar que algunos macrófagos encontrados en el tejido adiposo de roedores obesos son grandes y multinucleados. Estas células gigantes multinucleadas son las mismas que se encuentran con frecuencia en sitios con inflamación crónica y resultan de la fusión o ingurgitación entre los mismos macrófagos activados. Un dato interesante es haber determinado que la mayoría de los macrófagos, incluyendo estas células multinucleadas en el tejido adiposo, se observan como agregados en sitios donde existe necrosis de adipocitos.⁴²

Se ha podido determinar que el receptor específico CCR2 regula el reclutamiento de macrófagos y monocitos y es indispensable que tanto su funcionalidad como su expresión sea completa para una respuesta inflamatoria dependiente de macrófagos apropiada y, consecuentemente, para que pueda iniciarse el desarrollo de aterosclerosis. En ratones obesos seleccionados con la misma cantidad de adiposidad, la pérdida parcial o total de la función del gen *CCR2* redujo el contenido de macrófagos y el perfil genético inflamatorio del tejido adiposo, incrementó la expresión de adiponectina, disminuyó la esteatosis hepática, mejoró la homeostasis de glucosa sistémica y la sensibilidad a la insulina, y, como consecuencia, se pudo deducir que hubo notable mejoría en la disfunción endotelial.⁴¹ En estos ratones obesos, el tratamiento a corto plazo con un fármaco antagonista del receptor CCR2 disminuyó el contenido de macrófagos del tejido adiposo y mejoró la sensibilidad a la insulina.⁴³ Estos hallazgos sugieren que el CCR2 influye en el desarrollo de la obesidad, la inflamación del tejido adiposo y la resistencia a la insulina sistémica asociada, desempeñando también un papel clave en mantener a los macrófagos en el tejido adiposo y la resistencia a la insulina local a nivel del adipocito.

Inicio del proceso inflamatorio: angiogénesis, tejido adiposo y sistema inmune

El tejido adiposo es sin lugar a dudas el sitio patogénico donde inicia localmente la resistencia a la insulina inducida por la obesidad, antes de volverse sistémica. Su producción endocrina y paracrina de proteínas bioactivas dado su perfil de expresión genético secretor, refleja un estado inflamatorio generalizado en este tejido. El adipocito por sí mismo es clave en el inicio del desarrollo de inflamación inducida por obesidad.^{44,45} Las proteínas producidas por los adipocitos que podrían iniciar dicho proceso incluyen TNF- α , IL6, resistina, leptina, adiponectina, MCP1, PAI-1 y angiotensinógeno. Por otro lado, las células inmunes reclutadas (principalmente monocitos y macrófagos) expresan las mismas proteínas vasoactivas y proinflamatorias, con excepción de la leptina y

la adiponectina.^{46,47} Ambos tipos celulares, adipocitos y macrófagos reclutados, parecen participar en forma coordinada en la patogénesis de la resistencia a la insulina inducida por inflamación.⁴⁸ Ya que prácticamente la totalidad de los ácidos grasos son acumulados en los adipocitos, se asume de manera general que el proceso inflamatorio se inicia en los adipocitos y es amplificado por los macrófagos.

Otras células encontradas en el tejido adiposo también participan en el proceso inflamatorio, como las células vasculares. Este órgano es un tejido altamente vascularizado con múltiples capilares en contacto con cada adipocito. El escenario parece indicar que conforme el tejido adiposo prolifera y se expande en paralelo con aumento en los depósitos de nutrimentos, también prolifera la irrigación del órgano mediante angiogénesis acelerada, a través de procesos similares a la angiogénesis que mantiene el crecimiento tumoral. La microvasculatura, además de ser un elemento clave para el crecimiento, desarrollo y expansión del tejido adiposo, indudablemente es importante en la inflamación de este tejido. Es posible predecir y detectar cambios en las células endoteliales del tejido adiposo en respuesta a una adiposidad alterada y en aumento. Estas células endoteliales del tejido adiposo también incrementan la expresión de sustancias vasoactivas claves para reclutar células del sistema inmune, como serían las proteínas de adhesión ICAM1, VCAM1, E-selectina y P-selectina, en respuesta a un incremento gradual en la cantidad total de grasa corporal. Ocurre lo mismo con MCP1 y, como ya se mencionó, la MCP1 es el elemento principal en inducir la migración de los monocitos circulantes al interior del espacio subendotelial que inicia el proceso de su diferenciación a macrófagos.^{49,50}

Es muy probable que el proceso inflamatorio primario, que da lugar a resistencia a la insulina y disfunción endotelial, se desarrolle inicialmente de la siguiente manera: un exceso de alimentación y un aumento paulatino del tejido graso corporal causan acumulación de lípidos en los adipocitos, iniciando un estado de estrés celular reflejado por la activación de las cinasas inflamatorias JNK y NF- κ B. Como escribimos anteriormente, estas vías de señalización molecular proinflamatoria regulan la fosforilización de proteínas y eventos de transcripción celular dando lugar a la producción elevada de citocinas proinflamatorias por los adipocitos, incluyendo TNF- α , IL6, leptina, resistina, quimiocinas como el MCP1 y otros mediadores proaterogénicos, como el PAI-1. Las moléculas de adhesión ICAM1 y VCAM1 y las moléculas quimioatrayentes que provienen de las células endoteliales en el tejido adiposo en expansión, se unen a las integrinas y a los receptores de quimiocinas (CCR), respectivamente, en la superficie de los monocitos para reclutarlos hacia el tejido adiposo. Los monocitos se diferencian en macrófagos y producen altas cantidades de las mismas citocinas inflamatorias y quimiocinas producidas por los adipocitos junto con otras más, para promover una inflamación local que se refleja en resistencia a las acciones de la insulina a nivel de los adipocitos, con la consiguiente lipólisis y propagación de la diátesis inflamatoria a nivel sistémico generalizado.^{11,25}

La secreción aumentada de citocinas y lípidos derivados de la grasa abdominal y sistémica alcanza la circulación

portal y contribuye a la inflamación hepática y a la resistencia a la insulina en el hepatocito. Este incremento de lípidos como sustrato, es secundario al aumento de adiposidad corporal, y a su vez activa la respuesta inflamatoria en el hígado, con aumento asociado en la producción de citocinas y quimiocinas. Mediadores proinflamatorios y proaterogénicos son producidos en el hepatocito. Al mismo tiempo, células inmunes asociadas, incluyendo monocitos y macrófagos, son reclutados y activados, y en conjunto causan resistencia local a la insulina y esteatosis en el hepatocito. Este proceso se une a la diátesis inflamatoria sistémica que ocurre desde el tejido adiposo y promueve resistencia a la insulina en el músculo esquelético y otros tejidos, además de aterogénesis en la vasculatura⁵¹ (Figura 1).

Implicaciones terapéuticas y perspectivas futuras

Se ha podido determinar que la señalización del receptor CCR2 es crítica en la génesis de la respuesta inmune y la aterosclerosis. Hallazgos recientes han demostrado el complejo papel del CCR2 en el desarrollo y mantenimiento de la obesidad y sus fenotipos asociados. En animales magros no pueden detectarse efectos del genotipo *CCR2* sobre rasgos metabólicos, indicando que se necesita una interacción gen-ambiente para que CCR2 afecte el metabolismo e

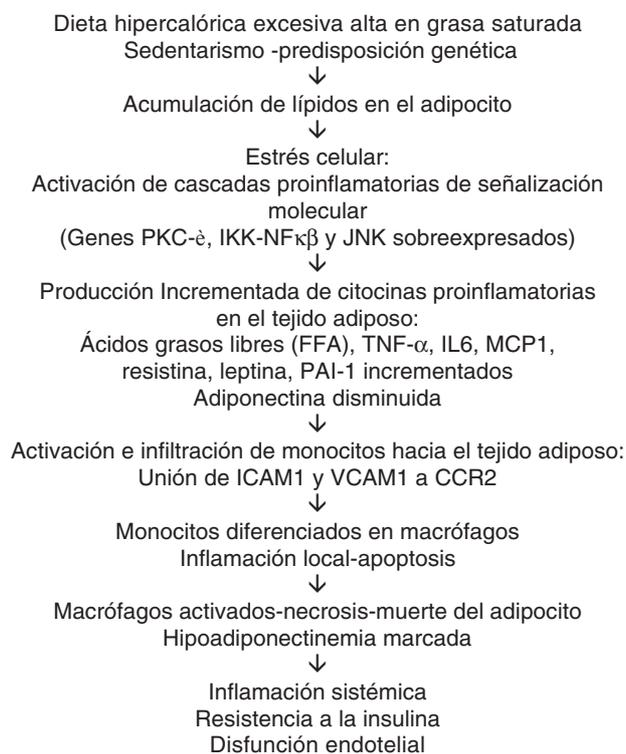


Figura 1. Mecanismos potenciales para la activación del proceso inflamatorio en el tejido adiposo.

influya en los procesos metabólicos.^{41,42} Se ha podido determinar que en roedores bajo un régimen de alimentación elevado en grasas saturadas, la expresión del gen *CCR2* y su producto proteico, el receptor *CCR2*, controla la conducta alimentaria, estimula el desarrollo de obesidad y de inflamación asociada con obesidad en el tejido adiposo; es el principal inductor de la acumulación de macrófagos en el tejido adiposo, inhibe la expresión de adiponectina, e influye negativamente a nivel sistémico sobre la esteatosis hepática y la sensibilidad a la insulina.^{41,42} Una vez que se ha establecido la obesidad, se ha documentado que la inhibición a corto plazo de la señalización del *CCR2* con un antagonista específico, atenúa la acumulación de macrófagos inducidos por la obesidad y la resistencia a la insulina.

Respecto a la influencia de *CCR2* sobre la conducta alimentaria, el receptor *CCR2* también parece ejercer acción en la capacidad de los centros del apetito para responder positivamente a una dieta alta en grasa. Se ha postulado que la regulación de la conducta alimentaria dependiente de *CCR2* ocurre a través de las acciones de este receptor sobre células en la periferia, que a su vez secretan moléculas que actúan sobre centros neuronales en el sistema nervioso central. No se puede descartar el hecho de identificar en un futuro poblaciones neuronales que expresen *CCR2* en áreas hipotálamicas específicas y de esta manera poder determinar si la inhibición central o periférica de *CCR2* puede atenuar el desarrollo de la obesidad inducida por dietas hipercalóricas y altas en su contenido graso, aun antes de su inicio.⁴¹

La adiponectina es una hormona producida en los adipocitos que regula positivamente la sensibilidad a la insulina en hígado y músculo. La elevada protección a desarrollar resistencia a la insulina en los ratones obesos a los que se les ha eliminado la expresión del receptor *CCR2* (denominados *CCR2*^{-/-}), comparada con los *CCR2*^{+/+} que expresan el receptor, es consistente con una mayor expresión de adiponectina y mayores concentraciones de adiponectina circulante en los ratones obesos *CCR2*^{-/-}. Estos hallazgos sugieren la existencia de un mecanismo dependiente de *CCR2*, por el cual la obesidad induce una disminución marcada en la expresión de adiponectina. La modulación de la expresión de adiponectina puede ocurrir indirectamente a través de la interacción del receptor *CCR2* expresado en el tejido adiposo y con la expresión de genes inflamatorios inducidos por obesidad. Las citocinas inflamatorias, especialmente *TNF-α*, inhiben la expresión de adiponectina por los adipocitos. Esta situación podría explicar cómo el bajo perfil de expresión inflamatorio del tejido adiposo de los ratones obesos *CCR2*^{-/-} contribuye al mantenimiento de la expresión adecuada de adiponectina, protegiendo contra el desarrollo de resistencia a la insulina y disfunción endotelial en estos roedores mutantes. Estos hallazgos tienen consecuencias clínicas importantes, como que la inhibición de la expresión del receptor *CCR2* por antagonistas selectivos podría tener efectos directos o indirectos en aumentar los niveles de adiponectina.⁴¹

El tratamiento a corto plazo con un antagonista del *CCR2* reduce la fracción de macrófagos en el tejido adiposo y mejora la sensibilidad a la insulina, por lo que se ha postulado que cualquier tratamiento que prevenga la infiltración de macrófa-

gos en el tejido adiposo en obesos, tendrá efectos benéficos en la respuesta inflamatoria y el estado metabólico anormal. Sin embargo, se debe tener presente que existen funciones biológicas normales efectuadas por los macrófagos en el tejido adiposo. Un estudio reciente demostró que más de 90% de los macrófagos en el tejido adiposo se encuentra rodeando a los adipocitos muertos. Esto sugiere que una de las funciones normales es limpiar desechos necróticos del tejido adiposo, algo similar a los bien conocidos efectos de los macrófagos en otros estados inflamatorios.⁵²

Otras investigaciones han indicado que la microhipoxia del tejido local podría tener un papel en la quimiotaxis y en la retención de macrófagos en los depósitos de grasa en expansión. La adipogénesis y angiogénesis se encuentran firmemente compenetradas durante el proceso de acumulación y crecimiento del tejido adiposo en desarrollo, y como en el crecimiento de un tumor, el crecimiento excesivo del tejido adiposo durante el desarrollo de la obesidad depende de la formación de nuevos vasos sanguíneos para poder obtener y proveerse de oxígeno y nutrientes.⁵³ Ya que las quimiocinas, como el MCP1 (*CCL2*) también pueden actuar como factores angiogénicos, es tentador especular que tanto éstas como su receptor (*CCR2*) están involucrados en la neovascularización que ocurre durante la expansión del tejido adiposo. En este caso, la inhibición de la infiltración de macrófagos podría afectar la expansión del tejido adiposo al interferir con el proceso angiogénico.⁵³

Para finalizar, no cabe duda que el receptor *CCR2* es una pieza clave en la patogénesis y la aparición del fenotipo de obesidad y sus comorbilidades asociadas. La identificación del *CCR2* como posible objetivo terapéutico en los esfuerzos para tratar la disfunción endotelial secundaria a la resistencia a la insulina en la obesidad, y a la obesidad misma, representa otro enfoque prometedor.

Análisis crítico de la información

Aunque no cabe la menor duda que los conceptos que pretenden explicar los mecanismos de la resistencia a la insulina inducida por la inflamación se encuentran en fases de avanzada⁵⁴ paralelas al intento de dilucidar las causas de la epidemia de la obesidad, aún existen mecanismos adicionales no relacionados asociados con la aparición de resistencia a la insulina. Como ejemplo podemos indicar la presencia de polimorfismos en genes que codifican varios de los componentes moleculares de la vía de señalización de la insulina en los síndromes de resistencia a la insulina, en pacientes con lipodistrofia que carecen de tejido adiposo. Estos polimorfismos son diferentes a los encontrados en la resistencia a la insulina de pacientes típicos con sobrepeso y diabetes tipo 2. Así mismo, hay gran optimismo por tener a la inflamación como el objetivo directo para intervenciones farmacológicas dirigidas a prevenir o tratar la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2, o modular el riesgo para la enfermedad cardiovascular y otras condiciones metabólicas. Todavía no se ha investigado a fondo si esta estrategia podría incluir algún beneficio a los pacientes que cursan con estas condiciones. No cabe duda que haber

demostrado que TNF- α induce resistencia a la insulina fue un gran paso en vincular la inflamación a la patogénesis más importante que predispone a la diabetes tipo 2. Pero ante la presencia de tantas citocinas y quimiocinas, TNF- α por sí misma no parece tener gran importancia como objetivo farmacológico. Se antojaría más prudente intentar modular las señales moleculares convergentes e integrativas relacionadas con la expresión de JNK o IKK β /NF- κ B. También se desconoce si existen diferencias en los distintos grupos étnicos, teniendo como muestra al grupo asiático que parece presentar las características de la inflamación inducida por un aumento de tejido adiposo, con puntos de corte menor que los utilizados para diagnosticar obesidad y sobrepeso.

Se ha podido demostrar que las TZD (pioglitazona y rosiglitazona) y los inhibidores de la HMG CoA reductasa tienen propiedades antiinflamatorias más allá de sus acciones primarias relacionadas con la homeostasis de la glucosa y la disminución del colesterol, respectivamente. Las TZD actúan a nivel de PPAR γ secuestrando ácidos grasos en el adipocito y mejorando la sensibilidad a la insulina sistémica. Sin embargo, han demostrado una tolerabilidad limitada y efectos adversos. Es de particular preocupación la tendencia de la mayoría de estos fármacos a inducir un aumento de peso corporal. Su efecto antiinflamatorio se relaciona con ejercer contención en la expresión de NF- κ B. Las estatinas han mostrado también regular a la baja la expresión de NK- κ B y la proteína C reactiva, reduciendo la expresión de citocinas protrombóticas. Sin embargo, a pesar de estas acciones antiinflamatorias, las estatinas no parecen influir de manera significativa sobre la resistencia a la insulina o sobre la glucemia. Un último ejemplo son los salicilatos. Aunque altas dosis de salicilatos inhiben directamente NK- κ B y disminuyen los niveles de glucosa, su utilidad clínica para este hecho podría verse limitada por sus efectos antitrombóticos y antiagregantes plaquetarios, que, acoplados a irritación intestinal, podrían estar asociados a un poco aceptable riesgo elevado de sangrado gastrointestinal.

Sin embargo, haber documentado que la diabetes tipo 2, la obesidad y las enfermedades cardiovasculares se caracterizan por resistencia a la insulina y una inflamación crónica subclínica (subaguda), y que el mecanismo desencadenante es a través de activación de macrófagos en el tejido adiposo, conocer los pasos íntimos moleculares de esta interacción a través de sus receptores CCR2 y poder manipularlos, abre un inmenso campo en la investigación farmacogenómica futura para el descubrimiento de fármacos que simultáneamente se podrán utilizar para las enfermedades metabólicas como la obesidad y la diabetes tipo 2, y otras enfermedades con fondo predominantemente inflamatorio, como sería la artritis reumatoide.

Referencias

1. **Grundy SM.** Metabolic syndrome: connecting and reconciling cardiovascular and diabetes worlds. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:1093-100.
2. **American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute; Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, et al.** Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/ National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. Executive summary. *Cardiol Rev* 2005;13:322-327.
3. **Reaven GM.** Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-1607.
4. **Grundy SM.** A constellation of complications: the metabolic syndrome. *Clin Cornerstone* 2005;7:36-45.
5. **McGarry JD.** What if Minkowski had been ageusic? An alternative angle on diabetes. *Science* 1992;258:766-770.
6. **Lewis GF, Uffelman KD, Szeto LW, Weller B, Steiner G.** Interaction between free fatty acids and insulin in the acute control of very low density lipoprotein production in humans. *J Clin Invest* 1995;95:158-166.
7. **Eckel RH.** Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Engl J Med* 1989;320:1060-1068.
8. **Kim YB, Shulman GI, Kahn BB.** Fatty acid infusion selectively impairs insulin action on Akt1 and protein kinase C lambda/zeta but not on glycogen synthase kinase-3. *J Biol Chem* 2002;277:32915-32922.
9. **Zick Y.** Role of Ser/Thr kinases in the uncoupling of insulin signaling. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27(Suppl 3):S56-S60.
10. **Davis RJ.** Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell* 2000;103:239-252.
11. **Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, et al.** A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature* 2002;420:333-336.
12. **Aguirre V, Uchida T, Yenush L, Davis R, White MF.** The c-Jun NH(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307). *J Biol Chem* 2000;275:9047-9054.
13. **Kaneto H, Nakatani Y, Miyatsuka T, Kawamori D, Matsuo TA, Matsuhisa M, et al.** Possible novel therapy for diabetes with cell-permeable JNK-inhibitory peptide. *Nat Med* 2004;10:1128-1132.
14. **Yu C, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, Wang Y, et al.** Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem* 2002;277:50230-50236.
15. **Schmitz-Peiffer C.** Protein kinase C and lipid-induced insulin resistance in skeletal muscle. *Ann N Y Acad Sci* 2002;967:146-157.
16. **Gao Z, Hwang D, Bataille F, Lefevre M, York D, Quon MJ, et al.** Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex. *J Biol Chem* 2002;277:48115-48121.
17. **Shoelson SE, Lee J, Yuan M.** Inflammation and the IKK beta/I kappa B/NF-kappa B axis in obesity- and diet-induced insulin resistance. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27(Suppl 3):S49-S52.
18. **Rajala MW, Scherer PE.** Minireview. The adipocyte: at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 2003;144:3765-3773.
19. **Wellen KE, Hotamisligil GS.** Inflammation stress, and diabetes. *J Clin Invest* 2005;115:1111-1119.
20. **Bornstein SR, Abu-Asab M, Glasow A, Path G, Hauner H, Tsokos M, et al.** Immunohistochemical and ultrastructural localization of leptin and leptin receptor in human white adipose tissue and differentiating human adipose cells in primary culture. *Diabetes* 2000;49:532-538.
21. **Curat CA, Miranville A, Sengenès C, Diehl M, Tonus C, Busse R, et al.** From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes* 2004;53:1285-1292.
22. **Vacca A, Ribatti D, Ruco L, Giacchetta F, Nico B, Quondamatteo F, et al.** Angiogenesis extent and macrophage density increase simultaneously with pathological progression in B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Br J Cancer* 1999;79:965-970.
23. **Takahashi K, Takeya M, Sakashita N.** Multifunctional roles of macrophages in the development and progression of atherosclerosis in humans and experimental animals. *Med Electron Microsc* 2002;35:179-203.
24. **Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr.** Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796-1808.
25. **Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, et al.** Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 2003;112:1821-1830.
26. **Ferri C, Desideri G, Valenti M, Bellini C, Pasin M, Santucci A, et al.** Early upregulation of endothelial adhesion molecules in obese hypertensive men. *Hypertension* 1999;34:568-573.
27. **Kvasnicka T, Kvasnicka J, Ceska R, Grauova B, Vrablik M.** Increasing plasma levels of soluble cell adhesion molecules (sE-Selectin, sP-Selectin and sICAM-1) in overweight adults with combined hyperlipidemia. *Sb Lek* 2001;102:473-477.
28. **Gerhardt CC, Romero IA, Canello R, Camoin L, Strosberg AD.** Chemokines control fat accumulation and leptin secretion by cultured human adipocytes. *Mol Cell Endocrinol* 2001;175:81-92.
29. **Bruun JM, Lihn AS, Madan AK, Pedersen SB, Schiott KM, Fain JN, et al.** Higher production of interleukin-8 in visceral compared to subcutaneous adipose tissue: implications of non-adipose cells in adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286:E8-E13.
30. **Bouloumie A, Marumo T, Lafontan M, Busse R.** Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J* 1999;13:1231-1238.

31. Yamagishi SI, Edelstein D, Du XL, Kaneda Y, Guzmán M, Brownlee M. Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *J Biol Chem* 2001;276:25096-25100.
32. Takahashi K, Mizuarai S, Araki H, Mashiko S, Ishihara A, Kanatani A, et al. Adiposity elevates plasma MCP-1 levels leading to the increased CD11b-positive monocytes in mice. *J Biol Chem* 2003;278:46654-46660.
33. Mohanty P, Aljada A, Ghanim H, Hofmeyer D, Tripathy D, Syed T, et al. Evidence for a potent antiinflammatory effect of rosiglitazone. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2728-2735.
34. Bruun JM, Lihn AS, Pedersen SB, Richelsen B. Monocyte chemoattractant protein-1 release is higher in visceral than subcutaneous human adipose tissue (AT): implication of macrophages resident in the AT. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2282-2289.
35. Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:7265-7270.
36. Kurihara T, Bravo R. Cloning and functional expression of mCCR2, a murine receptor for the C-C chemokines JE and FIC. *J Biol Chem* 1996;271:11603-11607.
37. Charo IF, Peters W. Chemokine receptor 2 (CCR2) in atherosclerosis, infectious diseases, and regulation of T-cell polarization. *Microcirculation* 2003;10:259-264.
38. Inoue S, Egashira K, Ni W, Kitamoto S, Usui M, Otani K, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation* 2002;106:2700-2706.
39. Tabata T, Mine S, Kawahara C, Okada Y, Tanaka Y. Monocyte chemoattractant protein-1 induces scavenger receptor expression and monocyte differentiation into foam cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;305:380-385.
40. Takaiishi H, Taniguchi T, Takahashi A, Ishikawa Y, Yokoyama M. High glucose accelerates MCP-1 production via p38 MAPK in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;305:122-128.
41. Weisberg SP, Hunter D, Huber R, Lemieux J, Slaymaker S, Vaddi K, et al. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J Clin Invest* 2006;116:115-124.
42. Kolonin MG, Saha PK, Chan L, Pasqualini R, Arap W. Reversal of obesity by targeted ablation of adipose tissue. *Nat Med* 2004;10:625-632.
43. Brodmerkel CM. Discovery and pharmacological characterization of a novel rodent active CCR2 antagonist, INCB3344. *J Immunol* 2005;175:5370-5378.
44. Johnson PR, Hirsch J. Cellularity of adipose depots in six strains of genetically obese mice. *J Lipid Res* 1972;13:2-11.
45. Krotkiewski M, Bjorntorp P, Sjöstrom L, Smith U. Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest* 1983;72:1150-1162.
46. Coon PJ, Rogus EM, Drinkwater D, Muller DC, Goldberg AP. Role of body fat distribution in the decline in insulin sensitivity and glucose tolerance with age. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1125-1132.
47. Gastaldelli A, Miyazaki Y, Pettiti M, Matsuda M, Mahankali S, Santini E, et al. Metabolic effects of visceral fat accumulation in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:5098-5103.
48. Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, Maeda S, Li ZW, Long JM, et al. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med* 2005;11:191-198.
49. Crandall DL, Hausman GJ, Kral JG. A review of the microcirculation of adipose tissue: anatomic, metabolic, and angiogenic perspectives. *Microcirculation* 1997;4:211-232.
50. Blake GJ, Ridker PM. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction. *J Intern Med* 2002;252:283-294.
51. Cai D. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK β and NF- κ B. *Nat Med* 2005;11:183-190.
52. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res* 2005;46:2347-2355.
53. Lacasa D, Taleb S, Keophiphath M, Miranville A, Clement K. Macrophage-secreted factors impair human adipogenesis: involvement of proinflammatory state in preadipocytes. *Endocrinology* 2007;148:868-877.
54. Lee Y, Pratley RE. Abdominal obesity and cardiovascular disease risk: the emerging role of the adipocyte. *JCRP* 2007;27:2-10.