

Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización

Citlaly Gutiérrez-Rodelo, Adriana Roura-Guiberna y Jesús Alberto Olivares-Reyes*

Laboratorio de Transducción de Señales, Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (IPN), Ciudad de México, México

Resumen

Las acciones biológicas de la insulina se inician al activar su receptor de membrana, el cual desencadena múltiples vías de señalización que median sus acciones biológicas. Debido a la importancia de la regulación de funciones metabólicas promotoras del crecimiento y la proliferación celulares, las acciones de la insulina son altamente reguladas para promover el adecuado funcionamiento metabólico y el balance energético. Si estos mecanismos se ven alterados, se puede producir una condición conocida como resistencia a la insulina, que es la consecuencia de una señalización deficiente de la insulina causada por mutaciones o modificaciones posttraduccionales de su receptor o de moléculas efectoras localizadas río abajo del mismo. La resistencia a la insulina es una de las principales características de las manifestaciones patológicas asociadas con la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), una de las primeras causas de muerte en México y en todo el mundo. En años recientes, se ha identificado que condiciones como la inflamación, el estrés del retículo endoplásmico (ER) y la disfunción mitocondrial promueven la resistencia a la insulina. El objetivo de la presente revisión es dilucidar los aspectos moleculares de la resistencia a la insulina, con particular énfasis en el papel que juegan la inflamación, el estrés del retículo y la disfunción mitocondrial.

PALABRAS CLAVE: Insulina. Resistencia a la insulina. Inflamación. Estrés del retículo endoplásmico. Disfunción mitocondrial.

Abstract

The biological actions of insulin are initiated by activating its membrane receptor, which triggers multiple signaling pathways to mediate their biological actions. Due to the importance of metabolic regulation and promoting functions of cell growth and proliferation, insulin actions are highly regulated to promote proper metabolic functioning and energy balance. If these mechanisms are altered, this can lead to a condition known as insulin resistance, which is the consequence of a deficient insulin signaling caused by mutations or post-translational modifications of the receptor or effector molecules located downstream. Insulin resistance is one of the main characteristics of pathological manifestations associated with type 2 diabetes mellitus, one of the leading causes of death in Mexico and worldwide. In recent years, it has been found that conditions such

Correspondencia:

*Jesús Alberto Olivares-Reyes
Laboratorio de Transducción de Señales
Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN
Av. Instituto Politécnico Nacional, 2508
Col. San Pedro Zacatenco
C.P. 07360, Ciudad de México, México
E-mail: jolivare@cinvestav.mx

Fecha de recepción: 02-10-2015
Fecha de aceptación: 12-10-2015

as inflammation, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial dysfunction promote insulin resistance. The aim of this review is to elucidate the molecular aspects of insulin resistance and the mechanisms involved in regulating its effects, with particular emphasis on the role of inflammation, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial dysfunction. (Gac Med Mex. 2017;153:214-28)

Corresponding author: Jesús Alberto Olivares-Reyes, jolivare@cinvestav.mx

KEY WORDS: *Insulin. Insulin resistance. Inflammation. Endoplasmic reticulum stress. Mitochondrial dysfunction.*

Introducción

La DM2 es el trastorno endocrino más común en el ser humano; de acuerdo a la Federación Internacional de Diabetes (IDF), afecta actualmente a más de 387 millones de personas en todo el mundo y para el año 2035 potencialmente afectará a más de 592 millones (<http://www.idf.org>). La DM2, también conocida como «diabetes no dependiente de insulina» o «diabetes del adulto», es una enfermedad crónico-degenerativa que se caracteriza por la presencia de resistencia a la insulina, condición en la que las células que habitualmente responden a la insulina dejan de hacerlo, y/o por una deficiencia relativa de esta hormona en el organismo. La insulina, que desempeña funciones vitales principalmente en el metabolismo energético, participa, además, en la regulación de diversos procesos a nivel cardiovascular y en el sistema nervioso central (SNC)^{1,2}.

Estudios clínicos y experimentales han evidenciado que la resistencia a la insulina en los tejidos metabólicos, como el adiposo, el hepático y el muscular, constituye un rasgo característico de la disfunción metabólica inducida principalmente por la obesidad³. Esta resistencia periférica a la insulina causa que las células β pancreáticas secreten más insulina, un proceso conocido como hiperinsulinemia compensatoria. Sin embargo, junto con el empeoramiento de la resistencia a la insulina, ocurre a menudo el agotamiento de las células β , lo que da lugar a una hiperglucemia sostenida y a DM2^{1,3}. Además, la resistencia a la insulina contribuye de forma importante al desarrollo de otras condiciones, como dislipidemia, hipertensión y aterosclerosis. A nivel molecular, la resistencia a la insulina es la consecuencia de las alteraciones en la señalización de esta hormona, debido a mutaciones o modificaciones posttraduccionales de su receptor o de proteínas efectoras localizadas río abajo del mismo⁴.

Dado que la resistencia a la insulina desempeña un papel fundamental en la patogénesis de la DM2, se han hecho esfuerzos considerables para dilucidar sus

factores responsables, en particular de la resistencia a la insulina inducida por la obesidad. En general, se han identificado varios mecanismos celulares extrínsecos e intrínsecos que presentan una relación de causa-efecto entre el aumento de peso y la resistencia periférica a la insulina⁵. Las vías celulares intrínsecas incluyen la disfunción mitocondrial, el estrés oxidativo y el estrés del ER, mientras que las alteraciones en los niveles de adipocinas y ácidos grasos y la aparición de inflamación en el tejido metabólico son los mecanismos extrínsecos dominantes que modulan las acciones periféricas de la insulina⁵. El objetivo de la presente revisión se centra en el papel que desempeñan estos mecanismos en su desarrollo. Para ello, primero se abordan los mecanismos moleculares de la señalización, regulación y resistencia a la insulina, y posteriormente se revisan los aspectos moleculares de la inflamación, el estrés del ER y la disfunción mitocondrial y su asociación con la resistencia.

Acciones de la insulina

La insulina afecta de manera directa o indirecta a la función de prácticamente todos los tejidos en el cuerpo, provocando una notable variedad de respuestas biológicas; sus acciones metabólicas en el hígado, el músculo y el tejido adiposo son el objetivo de una intensa investigación a nivel global, puesto que estos tejidos son los responsables del metabolismo y almacenamiento de energía en el organismo, y desempeñan funciones importantes en el desarrollo de resistencia a la insulina, obesidad y DM2. La insulina es la principal responsable de controlar la captación, utilización y almacenamiento de nutrientes celulares; aumenta la absorción de glucosa de la sangre, principalmente en el músculo y el tejido adiposo, en donde promueve su conversión a glucógeno y triglicéridos, respectivamente, inhibiendo al mismo tiempo su degradación. Además, en el hígado inhibe la gluconeogénesis, la glucogenólisis y la cetogénesis, y promueve la síntesis de proteínas principalmente en el músculo. Estas acciones se llevan a cabo gracias a

una combinación de efectos rápidos, como la estimulación del transporte de glucosa en las células adiposas y musculares y la regulación de la actividad de enzimas clave en el metabolismo, y de mecanismos a largo plazo que implican cambios en la expresión génica^{6,7}.

Dentro de la fisiología cardiovascular, la insulina tiene un papel clave en la regulación de la contractilidad cardíaca, el tono vascular y el metabolismo de los lípidos, la glucosa y las proteínas^{8,9}. Una de sus principales funciones es la activación de la enzima sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS), que conduce a la producción de óxido nítrico (NO) en el endotelio vascular^{10,11}. La producción de NO inducida por la insulina en el endotelio se difunde tanto en el lumen como en las células del músculo liso vascular, donde activa la enzima guanilato ciclase para aumentar los niveles de GMPc, que induce la relajación vascular. De esta forma, el aumento del flujo sanguíneo por acción de la insulina induce un aumento posterior de la utilización de glucosa en los tejidos blanco^{8,9}. En los cardiomocitos la insulina también regula el transporte de glucosa, principalmente a través del transportador de glucosa de tipo 4 (GLUT-4), la glucólisis, la síntesis de glucógeno, el metabolismo de los lípidos, la síntesis de proteínas, el crecimiento, la contractilidad y la apoptosis^{8,9}.

La insulina también desempeña funciones relevantes en el SNC. Su presencia en el cerebro fue detectada por primera vez por Havrankova, et al.¹², quienes descubrieron altos niveles de insulina, no sólo en humanos, sino también en diversos modelos animales¹³. La insulina tiene un papel neuromodulador muy importante y se han identificado receptores de insulina y diversas vías de señalización asociadas a ésta en distintas regiones del cerebro, las cuales regulan efectos fisiológicos como el desarrollo neuronal, la regulación del metabolismo de la glucosa, el peso corporal y las conductas de alimentación; también participa en procesos cognitivos como la atención, el aprendizaje y la memoria¹⁴.

Mecanismos moleculares de las acciones de la insulina

La insulina es un péptido de 51 aminoácidos producido y secretado por las células β de los islotes pancreáticos. Consiste de dos cadenas polipeptídicas, A y B, de 21 y 30 aminoácidos, respectivamente, que están conectadas por puentes disulfuro^{4,15,16}. Sus acciones biológicas se inician cuando se une con su

receptor, una glucoproteína integral de membrana, el cual está formado por dos subunidades α y dos subunidades β . La subunidad α , de 135 kDa, que contiene el sitio de unión para la insulina, es totalmente extracelular y se une a la región extracelular de la subunidad β , así como a la otra subunidad α , a través de puentes disulfuro. La subunidad β , de 95 kDa, se compone de un dominio extracelular, uno transmembranal y uno intracelular de cinasa, que es activado por autofosforilación¹⁷.

El receptor de insulina pertenece a la familia de receptores con actividad intrínseca de cinasa de tirosinas (Tyr). La unión de la insulina a la subunidad α del receptor genera cambios conformacionales que inducen su activación catalítica y la autofosforilación de varios residuos de Tyr localizados en la región citosólica de la subunidad β ^{17,18}. Los residuos autofosforilados son entonces reconocidos por diferentes proteínas adaptadoras, entre las que se incluyen miembros de la familia del sustrato del receptor de insulina (IRS), de los cuales el IRS-1 y el IRS-2 constituyen los dos principales sustratos e intermediarios más comunes en la etapa inicial de propagación de la señal de insulina. El IRS actúa como una molécula adaptadora que organiza la formación de complejos moleculares y desencadena cascadas de señalización intracelular^{19,20}. La mayoría de las acciones de la insulina se llevan a cabo mediante la activación de dos vías principales de señalización: la vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K)/Akt también llamada proteína cinasa B (PKB), responsable de la mayoría de sus acciones metabólicas, y la vía de las cinasas activadas por mitógeno/Ras (MAPK/Ras), que regula la expresión genética y los efectos mitogénicos asociados a la insulina (Fig. 1)²¹.

En el caso de la vía PI3K/Akt, la cinasa Akt desempeña un papel central en la señalización de la insulina, ya que su activación lleva a la fosforilación de un importante número de sustratos con funciones clave en un amplia variedad de procesos biológicos, entre los que se incluyen enzimas, factores de transcripción, proteínas reguladoras del ciclo celular y proteínas de apoptosis y supervivencia²². A la fecha se han identificado tres isoformas de Akt (Akt1, 2 y 3), de las cuales Akt2 parece desempeñar un papel importante en las acciones metabólicas de la insulina, incluyendo la incorporación de glucosa en el músculo y el tejido adiposo a través de la translocación de GLUT-4 de compartimentos intracelulares a la membrana celular, para aumentar la captación de glucosa en la célula. Además, Akt participa en la síntesis de glucógeno a través de la inhibición de GSK-3 β , de proteínas vía

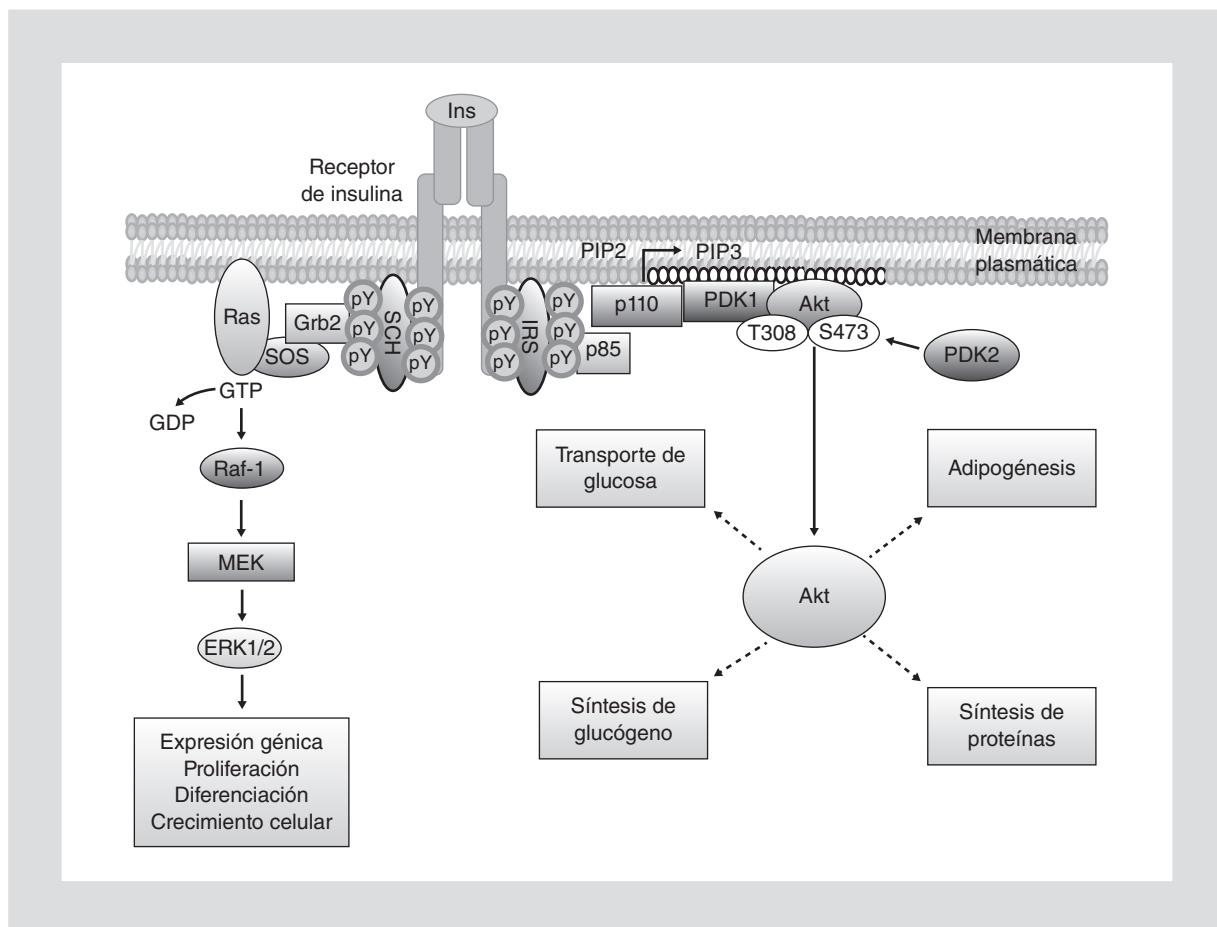


Figura 1. Vías de señalización de la insulina. Después de interaccionar con su receptor, éste recluta y fosforila principalmente dos proteínas adaptadoras: IRS, el principal mediador de las acciones metabólicas de la insulina, y SHC, que media las acciones de proliferación y crecimiento celulares. Ambas proteínas funcionan organizando complejos moleculares que desencadenan cascadas de señalización intracelular. Entre las principales vías mediadas por el IRS se encuentran la vía de PI3K/Akt, que tiene un papel central en la activación y regulación de diversos procesos metabólicos entre los que se incluyen la estimulación del transporte de glucosa, la síntesis de glucógeno y de proteínas, y la adipogénesis. En el caso de la SHC, ésta se asocia a la activación de la vía de las MAP cinasas para regular sus funciones proliferativas y de crecimiento.

blanco de rapamicina en mamíferos/cinasa de la proteína ribosomal S6 de 70 kDa (kilodaltons) y de lípidos (Fig. 1)^{22,23}.

Por otra parte, se sabe que la insulina es un potente factor de crecimiento; sus efectos promotores del crecimiento son mediados a través de la activación de la vía de las MAPK/Ras^{24,25}. La activación de esta vía involucra la fosforilación en Tyr de las proteínas IRS y/o proteína que contiene el dominio SH2, las cuales, a su vez, interactúan con la proteína unida al receptor del factor de crecimiento 2 (Grb2), que recluta a factor recombinante de nucleótidos de guanina *Son of Sevenless* (SOS) a la membrana plasmática para la activación de la proteína G pequeña Ras, catalizando el intercambio de difosfato de guanosina (GDP) por trifosfato de guanosina (GTP) en Ras, lo que permite su activación. El

Ras-GTP opera como un *switch* molecular, estimulando la activación de la cascada de MAPK, a través de la activación secuencial de Raf, MEK y ERK1/2^{24,26}. Una vez activas, ERK1/2 se translocan al núcleo y catalizan la fosforilación de factores de transcripción que regulan la expresión génica y promueven el crecimiento, la proliferación y la diferenciación celulares (Fig. 1)^{24,27}. Resulta interesante que el bloqueo de la vía de MAPK, mediante el empleo de dominantes negativas o inhibidores farmacológicos, prevenga la estimulación de los efectos promotores del crecimiento mediados por la insulina sin que se vean afectadas sus acciones metabólicas²⁸. Sin embargo, un estudio realizado por Bost, et al. demostró que la cinasa ERK1 es necesaria para la adipogénesis, lo que sugiere la participación de esta vía en las acciones metabólicas de la insulina^{25,29}.

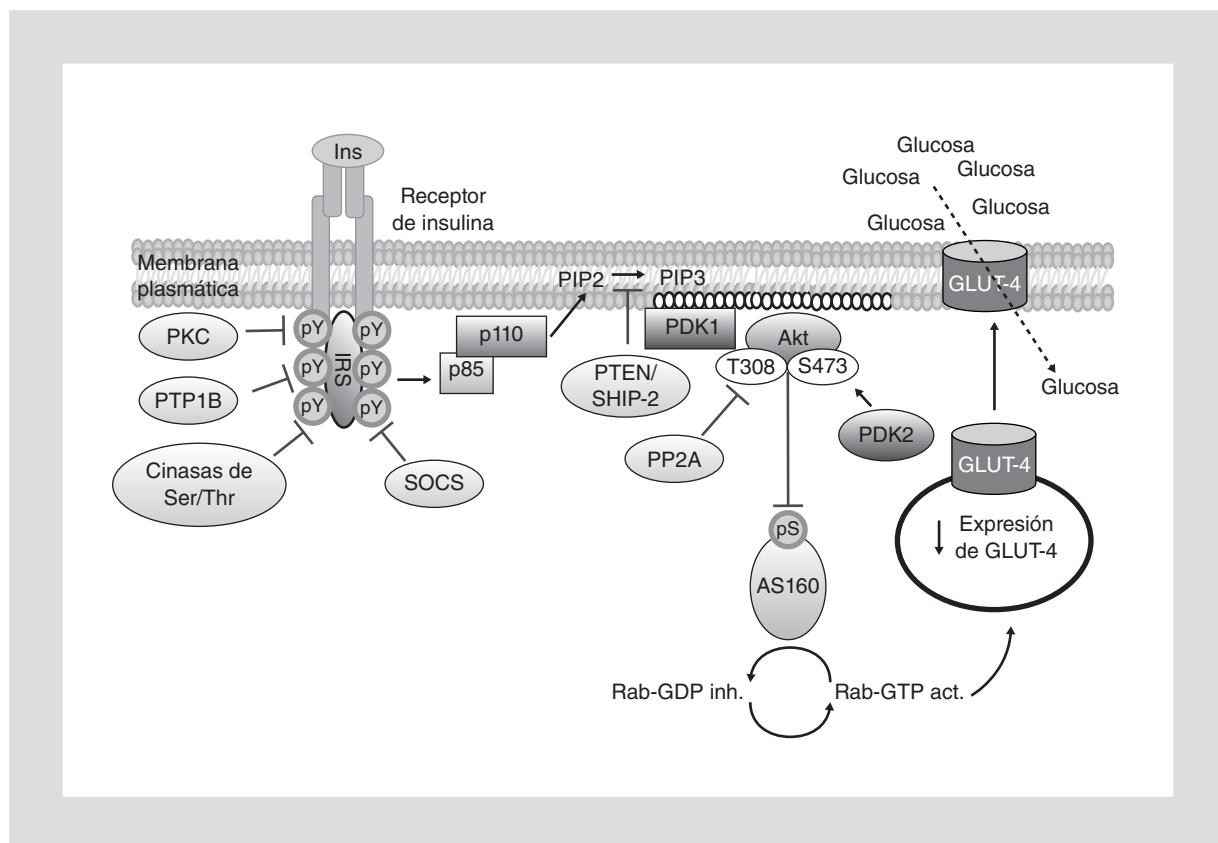


Figura 2. Regulación de las acciones de la insulina. Las acciones de la insulina son altamente reguladas para promover el adecuado funcionamiento de sus acciones metabólicas, promotoras del crecimiento y la proliferación celulares. A nivel del receptor, se han descrito varios mecanismos de regulación entre los que se incluyen su endocitosis y reciclamiento; la desfosforilación de residuos de Tyr clave que participan en la activación del receptor y en su asociación con proteínas adaptadoras, por acción de la PTP-1B, y la fosforilación del receptor en residuos de Ser/Thr por la PKC y otras cinasas de Ser/Thr que afecta a la actividad enzimática del receptor de insulina. Estos mecanismos alteran la actividad del receptor, desacoplando la formación de complejos proteicos y regulando su número y localización celular. Existen otros puntos de regulación de la señalización de insulina, río abajo de su receptor: a nivel de las proteínas IRS, por la fosforilación de residuos de Ser/Thr y por acción de SOCS; a nivel de Akt, por la acción de la fosfatasa PP2A, y, a nivel de la síntesis de PIP3, por la acción de las fosfatases de lípidos PTEN y SHIP-2, que antagonizan de manera específica la señalización de PI3K/Akt. Las flechas y líneas en gris indican las vías de regulación negativa.

Regulación de la señal de la insulina

Las acciones metabólicas y promotoras del crecimiento y proliferación celulares de la insulina son reguladas de manera precisa a través de mecanismos de autorregulación (regulación homóloga), en donde las enzimas activadas por la propia vía inhiben la actividad de proteínas claves de la señalización de la insulina^{4,30}. Adicionalmente, existen mecanismos moleculares homeostáticos, no relacionados con los activados por la insulina, que pueden inhibir también la señalización de esta hormona (regulación heteróloga)^{4,30}. Ambos mecanismos son de suma importancia, ya que mantienen el estado de homeostasis celular, definiendo la duración y el alcance de la señal y las acciones de la insulina³¹.

Se han identificado diferentes mecanismos de regulación homeostática a nivel del receptor, del IRS y de proteínas localizadas río abajo de ambas, entre las que se encuentran PI3K, Akt o GLUT-4 (Fig. 2).

Diversos estudios han demostrado que la actividad del receptor de insulina es regulada por la acción de fosfatases de fosftirosinas que desfosforilan residuos específicos de Tyr del receptor activo, reduciendo de este modo su actividad. En particular, se tiene evidencia de que la fosfatasa de fosftirosinas 1B (PTP-1B) es un componente esencial de los mecanismos reguladores de las acciones de la insulina³²⁻³⁴. Estudios de PTP-1B realizados con el ratón *knock-out* dan evidencia del papel de esta fosfatasa, ya que estos animales muestran un aumento en la sensibilidad a la insulina y en la fosforilación en Tyr del receptor, y son resis-

tentes a desarrollar obesidad y resistencia a la insulina por una dieta alta en grasa³²⁻³⁴. Por el contrario, la sobreexpresión de la PTP-1B en la línea de células β pancreáticas INS-1 disminuyó la fosforilación en Tyr estimulada por insulina, tanto del receptor como del IRS-1, la fosforilación de Akt y la secreción de insulina estimulada por glucosa³⁵.

Otro mecanismo molecular asociado a la regulación del receptor de insulina es la fosforilación de la subunidad β en residuos de Ser/Thr. Existe evidencia que indica que esta fosforilación afecta a la actividad de cinasa del receptor en respuesta a la unión de la insulina, alteración que se ha observado en estados de resistencia y obesidad, tanto en roedores como en humanos. La principal cinasa asociada a la fosforilación del receptor es la proteína cinasa C (PKC), que lo fosforila en diferentes regiones intracelulares de la subunidad β ³⁶. Sin embargo, también se ha visto la participación de otras cinasas que fosforilan al receptor y disminuyen su actividad, como proteína cinasa A (PKA), la cinasa aminoterminal de c-Jun (JNK) y cinasa activada por mitógenos de 38 KDa (kilodaltons)^{32,36}. Varios de los posibles sitios de fosforilación se encuentran próximos a los sitios de autofosforilación o dentro del dominio catalítico, lo cual podría afectar a la conformación del receptor o al acceso a los residuos de Tyr³⁶.

La regulación a nivel de la expresión del receptor de insulina representa otro mecanismo regulador de las acciones de la insulina. En presencia de insulina, la cinasa Akt fosforila al factor transcripcional FoxO1 en al menos tres residuos, lo cual facilita su interacción con la proteína 14-3-3. Esta interacción promueve la exclusión de FoxO1 del núcleo celular y su eventual degradación proteosomal dependiente de ubiquitinación, impidiendo de esta forma la transcripción del gen del receptor de insulina. Por el contrario, en ausencia de insulina, como en los períodos de ayuno, el factor transcripcional de Fox (*forkhead box*) O1 se une a la región promotora del receptor de insulina, estimulando su transcripción³⁶⁻³⁸.

En cuanto a la regulación del IRS, su fosforilación en residuos de Ser/Thr se ha considerado uno de los principales mecanismos de regulación tanto homóloga como heteróloga de la señal de insulina. De los 230 residuos de Ser/Thr localizados en el IRS, se han identificado más de 70 sitios potenciales de fosforilación para diferentes cinasas, entre las que se encuentran JNK, mTOR, ERK1/2, SIK-2 y diferentes isoformas de PKC³⁹. Se tiene evidencia experimental de que la fosforilación de múltiples residuos de Ser/Thr del IRS representa un mecanismo clave en la inhibición de la

señalización de la insulina, por la activación tanto fisiológica como fisiopatológica. Diversos estudios han demostrado que la fosforilación de estos residuos se asocia con la atenuación de la señal de la insulina, ya que se altera la capacidad del IRS de ser fosforilado en residuos de Tyr, se disminuye la actividad de PI3K y se promueve su degradación^{25,39}.

Por otra parte, se han identificado diversas proteínas adaptadoras que, al interaccionar con el receptor de insulina o con el IRS, disminuyen su actividad. Por ejemplo, las proteínas supresoras de proteínas de señalización de citocinas (SOCS), específicamente SOCS-1 y SOCS-3, son potentes represores de la vía de señalización de la insulina, cuya expresión se induce por acción de la insulina en diferentes tejidos y líneas celulares^{25,40,41}. Se ha propuesto que las SOCS regulan la señal de la insulina por su interacción directa tanto con el receptor de insulina como con el IRS, cuando ambos se encuentran activos^{25,41}. La interacción receptor de insulina-IRS/SOCS inhibe la fosforilación en Tyr del IRS al competir por el mismo sitio de interacción en el receptor de insulina, promueve la degradación proteosomal del IRS e inhibe la actividad de cinasa del receptor de insulina^{25,41}. Las proteínas Grb10 y Grb14 son proteínas adaptadoras citoplásmicas que se unen directamente a las fosfotirosinas del receptor de insulina (en el asa de activación) a través de dominios de homología al dominio 2 de la proteína Src (SH2); esta interacción disminuye la actividad catalítica del receptor e impide su interacción con el IRS. Se ha demostrado que la expresión de ambas proteínas en células adiposas o musculares bajo condiciones de obesidad disminuye la sensibilidad a la insulina^{42,43}.

Además de la regulación a nivel del receptor de insulina y del IRS, existen puntos de regulación por debajo de ambas proteínas que también influyen en la modulación de la señal de insulina. En este contexto, las fosfatases de lípidos pueden regular la señalización de insulina mediante la modulación de los niveles de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3), los cuales se generan por acción de la PI3K. Homólogo de la fosfatasa y tensina (PTEN) desfosforila a PIP3, antagonizando así de manera específica la señalización de PI3K/Akt^{44,45}. De manera por demás interesante, un estudio reciente de Shi, et al.⁴⁶ ha demostrado que, además de disminuir los niveles de PIP3, PTEN también puede desfosforilar a IRS-1 alterando de esta forma la señalización de insulina a través de la vía PI3K/Akt a través de estos dos mecanismos⁴⁶. Por otra parte, las fosfatasa-2 del inositol en posición 5' que contiene un dominio SH2 (SHIP-2) también des-

fosforila a PIP3 y desempeña un papel importante en la regulación de la señal de insulina^{47,48}.

Mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina

Una característica central de la DM2 es la resistencia a la insulina, condición en la que las células no responden de manera adecuada a la insulina³². Esta deficiente señalización de la insulina es causada por distintas alteraciones, entre las que se incluyen mutaciones y/o modificaciones posttraduccionales del receptor de insulina, del IRS o de moléculas efectoras localizadas río abajo del mismo. Entre las alteraciones más comunes de la resistencia a la insulina se encuentran la disminución en el número de receptores de insulina y de su actividad catalítica, el aumento en el estado de fosforilación en residuos de Ser/Thr del receptor de insulina y del IRS, el aumento en la actividad de fosfatases de residuos de Tyr, principalmente PTP-1B, que participan en la desfosforilación del receptor y del IRS, la disminución de la actividad de las cinasas PI3K y Akt, y defectos en la expresión y función del GLUT-4²⁵. Estas alteraciones reducen la incorporación de glucosa en el tejido muscular y adiposo y promueven alteraciones a nivel metabólico.

Un factor esencial que contribuye al desarrollo de la resistencia a la insulina es la hiperfosforilación de residuos de Ser/Thr de las proteínas IRS. La hiperfosforilación del IRS disminuye su fosforilación en Tyr y reduce su interacción con la PI3K, alterando la fosforilación y activación de la cinasa Akt. Adicionalmente, se ha reportado que la fosforilación en residuos de Ser/Thr del IRS acelera su degradación. Diversos agentes como las citocinas proinflamatorias, los ácidos grasos saturados (AGS), los aminoácidos, la endotelina 1, la angiotensina II (Ang II) y los estados de hiperinsulinemia⁴⁹⁻⁵¹ aumentan la actividad de las cinasas, como varias isoformas de PKC, la cinasa de estrés JNK, mTOR, cinasa de la proteína ribosomal S6 de 70 kDa (kilodaltons), PKA y MAPK, que fosforilan a IRS⁴.

Se ha documentado la importancia del aumento en el estado de fosforilación de las proteínas IRS en estudios clínicos realizados con pacientes obesos, en donde la expresión del IRS-1 disminuye alrededor del 54%; este aumento en su degradación puede ser generado por el aumento en la fosforilación en residuos de Ser/Thr⁴. Por otra parte, evidencias bioquímicas y genéticas indican que la hiperfosforilación de residuos de Ser/Thr a lo largo de la estructura del IRS-1 puede reducir hasta en un 50% la fosforilación en Tyr estimu-

lada por la insulina⁵². Este nivel de inhibición es suficiente para causar una intolerancia a la glucosa que progresó a DM2, especialmente si las células β pancreáticas fallan en proporcionar una adecuada hiperinsulinemia compensatoria⁵³. Por otro lado, la hiperinsulinemia en sí puede agravar la fosforilación en Ser/Thr del IRS-1 a través de la activación de las vías PI3K/Akt, PKC- τ /- λ , o mTORC1/p70S6k, las cuales participan en la regulación de la señal de insulina.

Por otra parte, se han identificado mecanismos reguladores de la señal de insulina a nivel de Akt. En este sentido, la producción de ceramidas, por un incremento en el metabolismo de AGS como el palmitato, puede regular la actividad de Akt, modulando directamente la actividad de la fosfatasa de fosfoproteína 2A (PP2A), que la desfosforila e inactiva^{54,55}, y de la proteína cinasa C ζ (PKC- ζ), que la fosforila en la Ser³⁴ e inhibe su translocación a la membrana para ser activada⁵⁶⁻⁵⁸.

Inflamación y resistencia a la insulina

La inflamación, una respuesta fisiológica de protección del organismo, se presenta para controlar las agresiones físicas, químicas o biológicas, y se caracteriza por un elevado número de leucocitos y/o un incremento en los niveles de citocinas proinflamatorias en la circulación o en los tejidos⁵⁹. Existe evidencia experimental y clínica que indica que la obesidad induce alteraciones en el tejido adiposo, hepático y muscular que conllevan una respuesta inflamatoria crónica de bajo grado, la cual contribuye a la resistencia a la insulina y a la disfunción metabólica sistémica. La obesidad se define como la presencia de una cantidad excesiva de grasa corporal o tejido adiposo, que se manifiesta por un incremento del peso corporal asociado a una mayor distribución de tejido adiposo visceral²⁵. En pacientes que sufren obesidad se ha detectado un nivel elevado de marcadores inflamatorios y una correlación entre estos marcadores y la presencia de adiposidad abdominal^{60,61}.

En el estado de obesidad existe un incremento en la acumulación de lípidos, particularmente en el tejido adiposo, lo cual provoca el aumento en el tamaño de las células adiposas, la expansión del tejido adiposo y la alteración en la secreción de adipocinas y citocinas proinflamatorias, así como la liberación aberrante de ácidos grasos libres (AGL). Los AGL y las citocinas proinflamatorias actúan en los tejidos metabólicos, como el tejido hepático y el muscular, modificando la respuesta inflamatoria, así como el metabolismo de los

lípidos, contribuyendo, por tanto, al síndrome metabólico. Además, se ha demostrado que la obesidad incrementa la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo y que esto contribuye de manera sustancial a la producción y secreción de citocinas en respuesta a la obesidad^{62,63}.

Entre las citocinas proinflamatorias secretadas en el tejido adiposo y por macrófagos se incluyen la resistina, el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), las interleucinas (IL) 6, 18 y 1 β , la proteína quimiotáctica de monocitos 1 y la Ang II⁶⁴⁻⁶⁶. Estos factores, por una parte, contribuyen al estado local y generalizado de la inflamación asociada a la obesidad y, por otra, como en el caso del TNF- α , la IL-6, la IL-18, la IL-1 β y la Ang II, directamente pueden inducir resistencia a la insulina^{25,67-69}. Lo más interesante de estos hallazgos es que la contribución del proceso inflamatorio a la resistencia a la insulina en el tejido adiposo no sólo es local, sino también sistémica. En el caso de citocinas como el TNF- α , la IL-6 y la IL-1 β , la resistencia a la insulina se induce a través de múltiples mecanismos, como la activación de cinasas de Ser/Thr, la disminución en la expresión de IRS-1, GLUT-4 y receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas, o la expresión y activación de SOCS-3 (Fig. 3)^{32,70-73}.

Otro factor importante en la inflamación asociada a la obesidad es la activación de los receptores de tipo toll (TLR), en particular la de TLR-2 y TLR-4³². Los TLR son una familia de receptores que pertenecen al sistema inmune innato, que generalmente son activados por patrones moleculares asociados a patógenos como el lipopolisacárido (LPS) y que inducen inflamación a través de la vía del factor nuclear κ B (NF- κ B). A pesar de que los TLR se expresan de manera ubi-
ca, se ha observado que la expresión de los TLR-4 se encuentra elevada en el tejido muscular y adiposo en condiciones de obesidad. Un hallazgo interesante indica que los AGS son agonistas de los TLR-4, lo que sugiere un papel potencial de estos receptores en la inflamación crónica de bajo grado inducida por la obesidad. En este contexto, los estudios realizados en ratones con una expresión disminuida de TLR-2 y de proteínas de señalización del TLR-4 muestran que estos animales quedan protegidos del desarrollo de obesidad, resistencia a la insulina y síndrome metabólico por una dieta alta en grasa^{74,75}. A la fecha se han descrito diferentes mecanismos por los que los TLR-4, al ser activados por los ácidos grasos, regulan la señal de insulina. Por ejemplo, existe evidencia de que la activación de los TLR-4 promueve la fosforilación directa del IRS en Ser/Thr a través de la

activación de JNK, cinasa del inhibidor de NF- κ B (IKK) y MAPK^{74,76}. También se ha reportado que la activación de la vía TLR-4/NF- κ B en los macrófagos por acción de AGL promueve la síntesis y secreción de citocinas como IL-6, TNF- α IL-1 β e IL-18, las cuales contribuyen al estado inflamatorio del tejido adiposo durante la obesidad^{77,78}. La expresión de SOCS-3 y de PTP-1B, que se consideran reguladores negativos de la señalización de insulina, también se induce por la activación del TLR-4⁷⁸. Finalmente, también son importantes los hallazgos descritos por Holland, et al.⁷⁹, quienes demostraron que, independientemente de su papel como precursores de ceramidas, los AGS, a través de la activación de los TLR-4, incrementan la expresión de enzimas que participan en la biosíntesis de las ceramidas. El incremento en los niveles intracelulares de ceramidas lleva a la activación de la fosfatasa PP2A, que defosforila e inactiva a Akt, inhibiendo la señal de insulina⁵⁷. Estos datos en su conjunto reforzan la idea de que el sistema inmune desempeña un papel crucial en el desarrollo de la resistencia a la insulina y de la DM2.

Estrés del ER y resistencia a la insulina

En el ER, un organelo celular, se realizan importantes funciones celulares, como el almacenamiento del calcio intracelular, el ensamblaje y plegamiento de proteínas y modificaciones postraduccionales. En condiciones de estrés celular, que incrementa la demanda del ER y conlleva una sobrecarga de su capacidad funcional, se generan alteraciones en su función y en la disminución del transporte de proteínas hacia el aparato de Golgi, la expresión de proteínas mal plegadas y la depleción del calcio de este reservorio, que en su conjunto reciben el nombre de «estrés del retículo»⁸⁰⁻⁸². Como mecanismo compensatorio al estrés del ER y específicamente al mal plegamiento de las proteínas, se activa en el mismo organelo un mecanismo conocido como respuesta a las proteínas mal plegadas (*unfolded protein response [UPR]*), que permite restablecer la homeostasis de las funciones del ER, mediante la inhibición de la síntesis de proteínas y el aumento tanto de la degradación de las proteínas del ER como del nivel de chaperonas para ayudar en el plegamiento proteíco⁸³. Si estos mecanismos de adaptación son insuficientes para restaurar la homeostasis del ER, la célula experimenta la muerte celular programada^{84,85}. La UPR incluye la activación de tres cinasas sensoras de estrés: cinasa de proteína del retículo parecida a

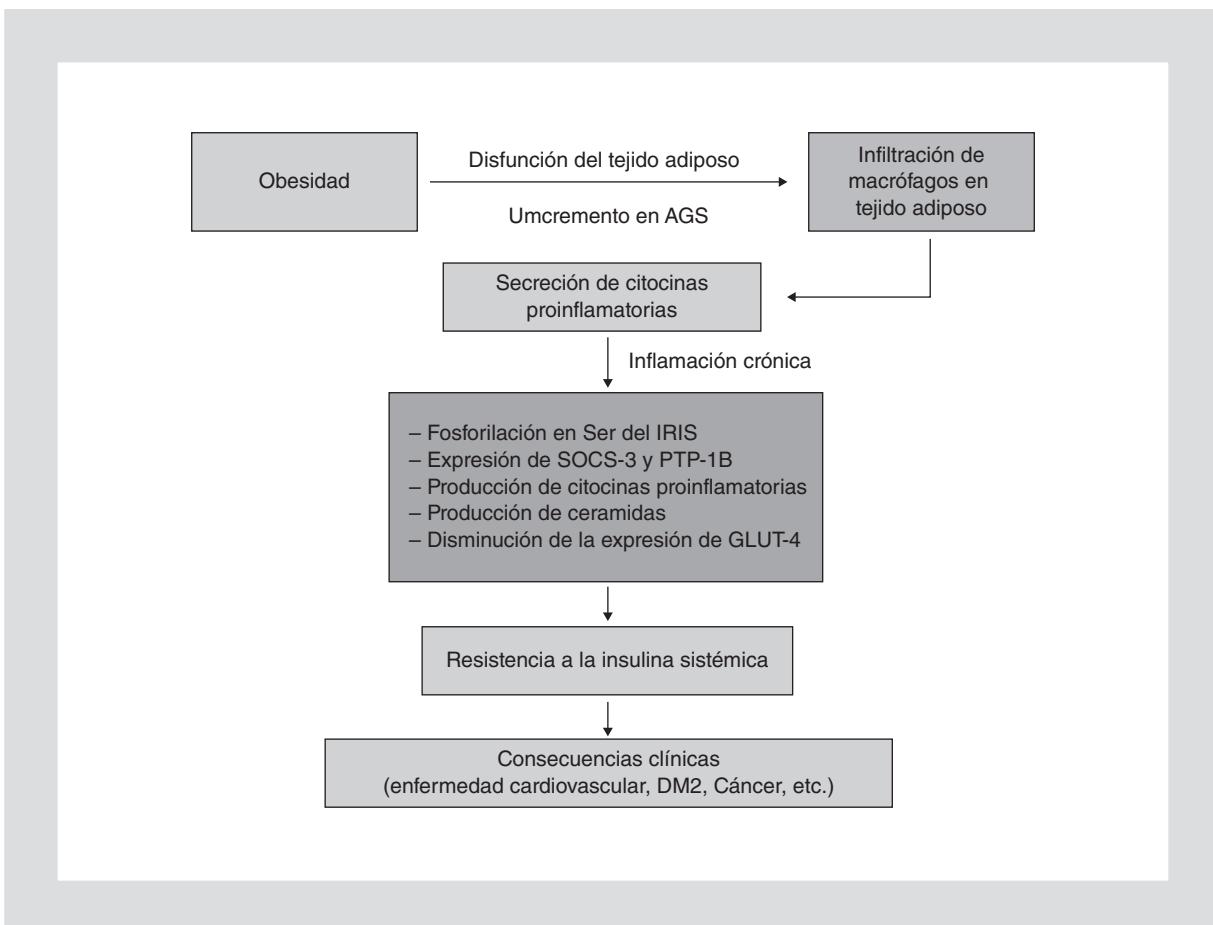


Figura 3. Inflamación y resistencia a la insulina. La obesidad promueve un estado de inflamación crónica de bajo grado, por un aumento en el número de macrófagos infiltrados en el tejido adiposo, que promueve la secreción de mediadores de la inflamación. Estos factores, por una parte, contribuyen al estado local y generalizado de inflamación asociada a la obesidad y, por otra, pueden inducir directamente resistencia a la insulina al promover la fosforilación en Ser del IRS, la expresión de SOCS-3, la producción citocinas proinflamatorias y ceramidas y la disminución de la expresión de GLUT-4 y el transporte de glucosa. La resistencia a la insulina se asocia al desarrollo de enfermedad cardiovascular, DM2 y cáncer, entre otras enfermedades.

la cinasa que se activa por el ARN de doble cadena (PERK), cinasa endorribonucleasa 1 que requiere inositol (IRE-1) y factor activador de la transcripción 6 (ATF-6), las cuales detectan el mal plegamiento proteico y desencadenan la UPR. Entre las respuestas que genera la UPR se encuentra el aumento en el nivel de chaperonas y enzimas de plegamiento que ayudan en el plegado proteico y evitan la agregación de proteínas no plegadas o mal plegadas⁸⁶.

Diversos estudios han demostrado una asociación estrecha entre el estrés del ER, la respuesta inflamatoria y la resistencia a la insulina. En este contexto, la activación de PERK promueve la activación de NF- κ B, por la supresión de la traducción de su inhibidor de NF- κ B (I κ B), ocasionando su translocación hacia el núcleo, en donde promueve la expresión de una variedad de genes involucrados en vías inflamatorias

como el TNF- α , la IL-1 β y la IL-6^{84,87,88}, que activan cinasas de Ser como JNK⁸⁹, IKK- β ⁹⁰ y PKC- θ ⁹¹. La activación de estas cinasas tiene como resultado la fosforilación en Ser del receptor o del IRS-1, lo que conlleva resistencia a la insulina. En el caso de la cinasa IRE, a través de su interacción con el factor 2 asociado al receptor del TNF- α (TRAF-2), lleva a la activación de IKK- β y JNK, las cuales a su vez fosforilan a IRS-1. Esta fosforilación se ha asociado a una disminución en el estado de fosforilación en Tyr del IRS, lo que reduce su capacidad para interactuar con otras proteínas de señalización, alterándose principalmente las vías de PI3K/Akt y de MAP cinasas^{82,86,92}. Por su parte, el ATF-6 también permite la activación del NF- κ B, que, como se ha mencionado, tiene un papel importante en la expresión de citocinas inflamatorias (Fig. 4).

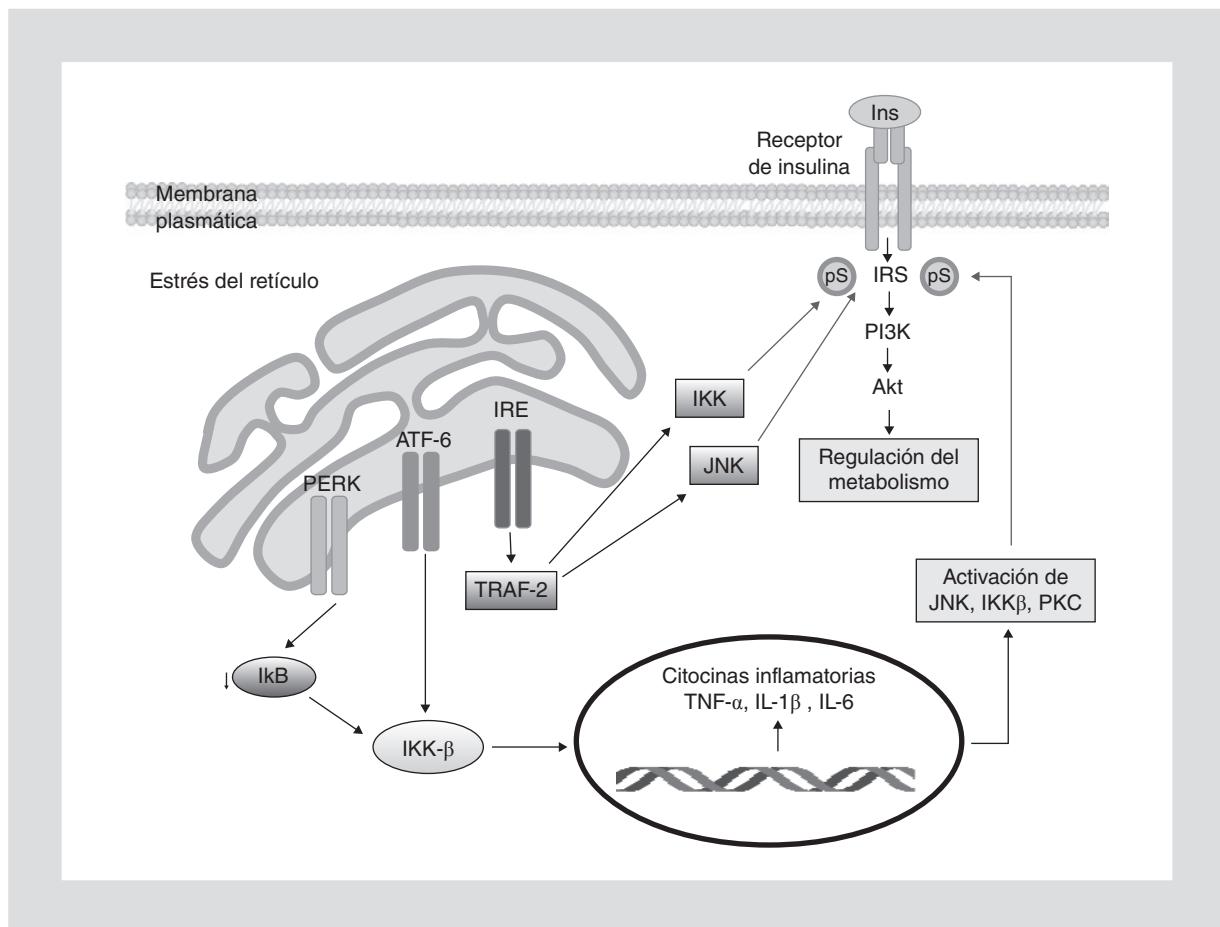


Figura 4. Estrés del retículo y su asociación con el desarrollo de resistencia a la insulina. En respuesta al mal plegamiento de proteínas, en el RE se induce la activación de tres cinasas sensoras de estrés: PERK, IRE-1 y ATF-6, las cuales detectan el mal plegamiento proteico y desencadenan un mecanismo conocido como UPR. Estas cinasas también promueven mecanismos que llevan a la síntesis de citocinas inflamatorias o a la activación de cinasas que regulan la activación de IRS. La PERK promueve la liberación de NF-κB de su inhibidor IκB, ocasionando su translocación hacia el núcleo y estimulando la síntesis de citocinas inflamatorias como TNF- α , IL-1 β e IL-6. Como consecuencia, se activan distintas cinasas de Ser, tales como la JNK y la PKC-θ, lo que conlleva la fosforilación en Ser de IRS-1, que produce resistencia a la insulina. La cinasa IRE-1 fosforila y activa a JNK, la cual su vez fosforila en Ser a IRS-1, efecto que reduce su capacidad para interaccionar con otras proteínas de señalización, alterándose principalmente las vías de PI3K/Akt y de MAP cinasas, lo que conlleva resistencia a la insulina. La vía de ATF-6 también activa el NF-κB, lo que resulta en la misma respuesta proinflamatoria. Las flechas y líneas en gris indican vías de regulación negativa.

De manera interesante, diversos estudios en modelos animales con obesidad han demostrado la existencia de estrés del retículo en el hígado, las células β pancreáticas, el cerebro y el tejido adiposo⁹²⁻⁹⁴. Adicionalmente, esta condición se ha detectado en el tejido adiposo y hepático de humanos con obesidad^{95,96}, la cual fue revertida en los indicadores de estrés del ER en pacientes sometidos a una pérdida de peso por procedimiento quirúrgico⁹⁶.

Las chaperonas del ER y las enzimas de plegamiento como las proteínas reguladas por glucosa (GRP) 78 y 94, la proteína disulfuro isomerasa, la calnexina y la calreticulina tienen como principal función asegurar el ensamblaje adecuado y organizar la estructura terciaria

de las proteínas, además de evitar la agregación de proteínas no plegadas o mal plegadas⁹⁷. Las chaperonas se encuentran asociadas a la membrana o en el lumen del ER y recientemente han adquirido un gran interés por su relación con el síndrome metabólico. En este contexto, la utilización de chaperonas de naturaleza proteica o química, en diferentes modelos animales, disminuye el estrés del ER, lo que se refleja en un aumento en la sensibilidad a la insulina⁹⁸⁻¹⁰⁰. Por ejemplo, la expresión de la chaperonina proteína regulada por oxígeno de 150 kDa (kilodaltons) reduce la hiperglucemia y el estado de resistencia a la insulina^{93,100}. Por su parte, la sobreexpresión de GRP-78 restaura la sensibilidad sistémica a la insulina y mejora la esteatosis hepática⁹⁹.

La administración crónica de chaperonas químicas como el 4-fenilbutirato (PBA) y el ácido tauroursodeoxílico (TUDCA) a ratones obesos ob/ob es capaz de normalizar su hiper glucemia y de reducir el estado de resistencia a la insulina presente en estos animales⁹⁸. Además, se reduce de manera importante la activación de PERK e IRE-1 con el tratamiento de ambas chaperonas químicas, aunque no se puede descartar que ésta sea la única acción de estos compuestos⁹⁸. En estudios realizados en humanos con obesidad, la administración de TUDCA y PBA incrementó la sensibilidad a la insulina y redujo el estado de resistencia^{101,102}.

Recientemente, se ha demostrado que las alteraciones en los niveles de expresión de la bomba de Ca²⁺ del retículo sárico/endoplásmico (SERCA), que tienen como función remover el calcio del citosol y devolverlo al ER, se asocian al desarrollo de estrés del ER y posteriormente a resistencia a la insulina. Bajo condiciones que reducen la actividad del SERCA, se produce un ambiente de calcio luminal que conlleva la baja actividad de las chaperonas del retículo¹⁰³. En el año 2010 Park, et al. reportaron que en el tejido hepático de ratones obesos (ob/ob), al compararlo con el de ratones control, se presentaba una reducción sustancial de la expresión de la bomba SERCA¹⁰⁴. Por otro lado, el tratamiento de personas diabéticas con rosiglitazona, un fármaco antidiabético miembro de la familia de las tiazolidinedionas, incrementó la expresión de SERCA, restaurando la reducción de la expresión de la bomba observada en los pacientes diabéticos con hiper glucemia alterada¹⁰⁵. Todos estos datos sugieren que hay una relación entre el estado de resistencia a la insulina y los niveles reducidos de la bomba SERCA. En conjunto, estos resultados indican que la disfunción del ER contribuye de manera importante al deterioro metabólico crónico.

Disfunción mitocondrial en la resistencia a la insulina y la DM2

La mitocondria, un organelo celular que juega un papel importante en el metabolismo energético, se encarga de proporcionar la mayor parte de la energía necesaria en forma de trifosfato de adenosina (ATP), a partir de moléculas orgánicas que son oxidadas en presencia de oxígeno. En los últimos años se ha propuesto que las alteraciones a nivel mitocondrial se asocian a la resistencia a la insulina, pero los mecanismos por los que el daño o disfunción mitocondrial conlleva la resistencia son causa de debate.

Aunque la definición de disfunción mitocondrial es motivo de controversia entre diferentes autores, en términos generales se puede referir a una disminución en la oxidación de sustratos, incluyendo lípidos y carbohidratos, como resultado de una disminución general de la fosforilación oxidativa. Asociada a esta pérdida de función, también puede hallarse una disminución en el número de mitocondrias. De esta forma, la disfunción mitocondrial puede ser el resultado de una disminución en la biogénesis de este organelo, una reducción del contenido proteico mitocondrial y/o una disminución de la actividad de las enzimas que participan en el proceso oxidativo. Todos estos cambios presumiblemente serían los responsables de conducir a una disminución en la oxidación de sustratos. Debido a que las mitocondrias son un organelo primario para la oxidación y el metabolismo de ácidos grasos y glucosa, la reducción en la función mitocondrial puede contribuir a la acumulación de AGL y de lípidos que favorece el desarrollo de resistencia a la insulina¹⁰⁶. En el caso de la acumulación de AGL, ésta se acompaña de un incremento en los niveles de diacilglicerol (DG) y ceramidas, que inhiben la señal de insulina, el DG promoviendo la activación de la PKC, que fosforila e inhibe al receptor de insulina, y las ceramidas regulando negativamente la activación de Akt. De esta forma, la acumulación de DG y ceramidas constituye un posible lazo de unión entre la disfunción mitocondrial y la resistencia a la insulina (Fig. 5).

De manera controversial, las evidencias recientes indican que la disfunción mitocondrial es más bien el resultado de la propia resistencia^{107,108}, en lugar de ser su causa¹⁰⁹. La manipulación genética de diferentes componentes de la señalización de la insulina, como el doble knockout (KO) del IRS-1 y el IRS-2 de manera específica en el hígado^{110,111} y el músculo esquelético¹¹², además de generar ratones con resistencia a la insulina, una marcada intolerancia a la glucosa y DM2^{111,112}, ha mostrado una disminución en el número de mitocondrias, una regulación alterada de genes que participan en el control de la función mitocondrial y en su biogénesis, y alteraciones a nivel de la fosforilación oxidativa y de la producción de ATP^{110,112}. Los efectos observados en estos trabajos se deben, probablemente, a que, al generarse la desregulación de la señal de insulina por la ausencia del IRS-1 y el IRS-2, el factor transcripcional FoxO1, que participa en la regulación de genes que controlan funciones como la producción de glucosa y el metabolismo de lípidos, ya no puede ser regulado por la fosforilación específica de Akt. Esto indica que el FoxO1 se encuentra activo en los ratones

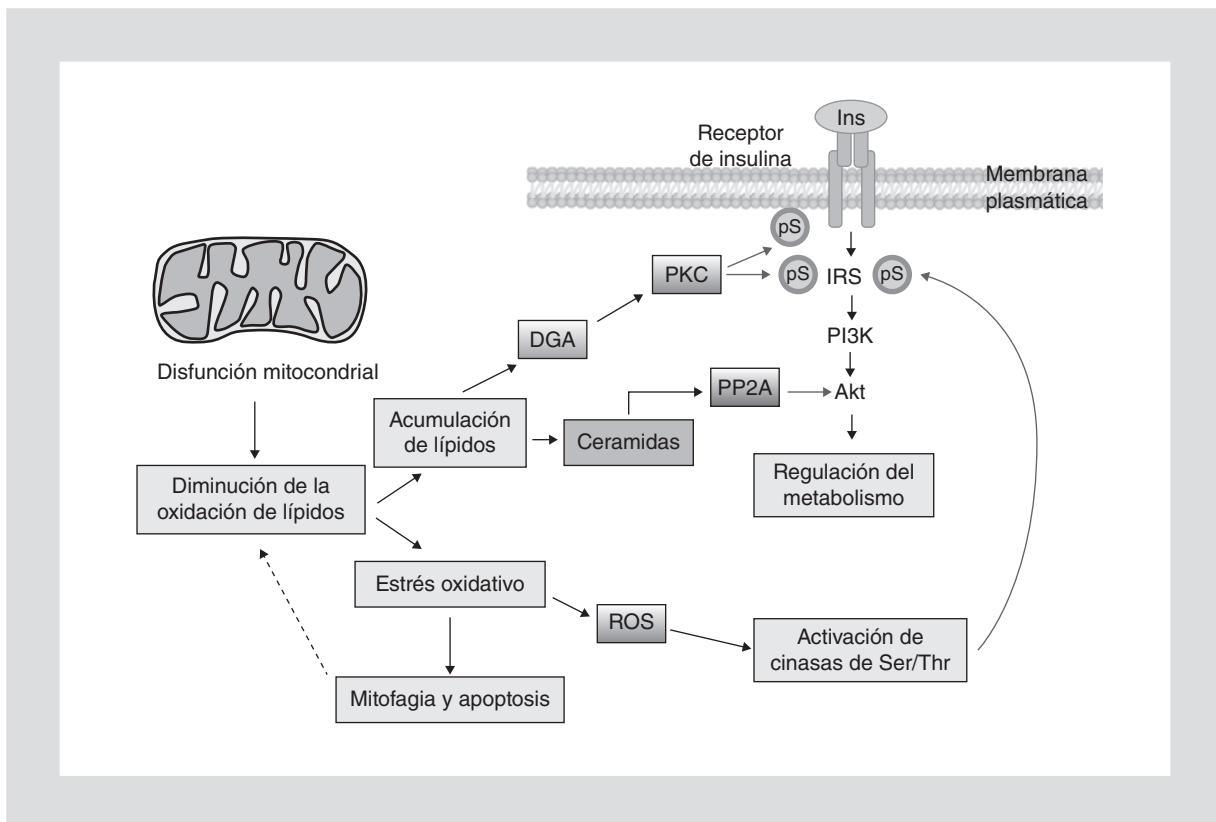


Figura 5. Disfunción mitocondrial y resistencia a la insulina. La disfunción mitocondrial promueve una disminución en la oxidación de lípidos, como resultado de una disminución general de la fosforilación oxidativa; esto contribuye a una acumulación de AGL y lípidos que favorece el desarrollo de resistencia a la insulina. La acumulación de FFA se acompaña de un incremento en los niveles de DG y ceramidas, los cuales inhiben la señal de insulina, el DG promoviendo la activación de la PKC, la cual fosforila e inhibe al receptor de insulina, y las ceramidas regulando la desfosforilación e inactivación de Akt por la PP2A. La disminución en la oxidación de lípidos también promueve la generación de ROS, que provoca estrés oxidativo y diversos daños a nivel mitocondrial y celular, lo que potencialmente da lugar a mitofagia o, bajo altos niveles de estrés, apoptosis. La eliminación de las mitocondrias por mitofagia podría reducir su número, lo que conllevaría una disminución en la oxidación de sustratos y la consecuente acumulación de lípidos. Las ROS también causan la activación de cinasas de Ser/Thr, entre las que se incluyen IKK- β , JNK y PKC, que incrementan la fosforilación en Ser de las proteínas IRS y la subsecuente resistencia a la insulina.

KO y que posiblemente es el responsable de regular los genes que participan en la disfunción mitocondrial, ya que la supresión adicional de FoxO1 (triple KO) ha sido capaz de rescatar el fenotipo metabólico y la función mitocondrial¹¹⁰. Estos resultados sugieren que la inducción genética directa de la resistencia que se presenta en estos modelos de estudio es capaz de conducir al desarrollo de la disfunción mitocondrial.

También existe evidencia de que el incremento en las concentraciones de ácidos grasos libres (FFA) durante la obesidad, condición que induce una sobreactivación mitocondrial, promueve un aumento en la β -oxidación para incrementar la disponibilidad de energía, especialmente en el músculo, el hígado y la grasa parda. Como consecuencia, se genera una gran cantidad de ATP a partir del catabolismo de los ácidos

grasos, si la energía adicional no puede ser liberada en forma de calor. Cuando el nivel de ATP excede el umbral, el exceso de energía da lugar a una reacción de retroalimentación negativa para atenuar la función mitocondrial inducida por el sustrato. En este mecanismo, el ATP inactiva a la enzima proteína cinasa activada por AMP (monofosfato de adenosina) para reducir la captación de glucosa inducida por la insulina con el fin de disminuir la producción de ATP¹¹³. De esta forma, la resistencia a la insulina representa un mecanismo protector celular que tiene como objetivo controlar la respuesta al estrés inducido por ATP en el músculo y el hígado. En este contexto, los agentes sensibilizadores de la señal de insulina son capaces de rescatar al tejido de la resistencia a la insulina mediante la inhibición de la β -oxidación mitocondrial⁵⁹.

Por otra parte, existe evidencia experimental cada vez más convincente de que las especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas por la mitocondria tienen un papel importante en la patogénesis, progresión y complicaciones a largo plazo de la DM2. Se ha propuesto que la disminución en la oxidación de sustratos afecta al flujo de electrones a través de su cadena de transporte, provocando una fuga de éstos hacia el oxígeno formando aniones superóxido. La generación de estos ROS provoca diversos daños a nivel mitocondrial y celular, entre los que se encuentran el daño oxidativo en el ADN mitocondrial, la agregación de proteínas y la peroxidación lipídica, lo que potencialmente da lugar a mitofagia (eliminación de las mitocondrias dañadas y prevención de la muerte celular) o, bajo altos niveles de estrés, apoptosis. La eliminación de las mitocondrias por mitofagia podría reducir el número de éstas, lo que conllevaría una disminución en la oxidación de sustratos y la consecuente acumulación de lípidos. Adicionalmente, se ha reportado que la formación de ROS afecta a la liberación de insulina por parte de las células β pancreáticas y a la sensibilidad a esta hormona. Por otra parte, se sabe que la producción de ROS causa la activación de cinasas de Ser/Thr, entre las que se incluyen IKK- β , JNK y PKC, que incrementan la fosforilación en Ser de las proteínas IRS y la subsecuente resistencia a la insulina (Fig. 5)¹⁰⁸.

En estudios realizados tanto en humanos como en modelos animales se ha demostrado que las hormonas que contribuyen a la resistencia a la insulina, como la Ang II, aumentan la actividad de la oxidasa de dinucleótido fosfato de nicotinamida adenina (NADPH) y la consecuente producción de ROS, lo que se asocia con anormalidades en la estructura y función mitocondrial. El empleo de fármacos que reducen las acciones de la Ang II, como los inhibidores de la enzima convertidora de Ang II y los antagonistas del receptor AT₁, incrementa la sensibilidad a la insulina, reduce la producción de ROS y mejora la función mitocondrial y su biogénesis¹¹⁴⁻¹¹⁶.

Conclusiones

La insulina desempeña acciones vitales en el metabolismo energético, la proliferación y la sobrevivencia celulares en tejidos periféricos y centrales. En la presente revisión se han abordado diferentes aspectos relacionados con su función y señalización, así como los mecanismos moleculares asociados a la regulación de sus acciones. De igual forma, se ha puesto de manifiesto el papel que desempeña esta hormona

cuando se presentan alteraciones en su función. La resistencia a la insulina, considerada como la plataforma más constante para el síndrome metabólico y el desarrollo de DM2, es un mecanismo complejo y multifactorial que se asocia con múltiples alteraciones en diferentes niveles de la señalización de la insulina. Procesos como la inflamación, el estrés del retículo y la disfunción mitocondrial constituyen en la actualidad mecanismos clave asociados al desarrollo de resistencia a la insulina. Por lo tanto, una mayor comprensión de los mecanismos moleculares en estas vías y la interconexión que existe entre ellas y la resistencia a la insulina constituye un reto actual para la investigación científica, ya que puede conducir al descubrimiento de nuevos blancos terapéuticos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) el apoyo recibido JAO-R ([Jesús Alberto Olivares-Reyes], proyecto de investigación SEP/CONA-CYT-CB, n.º 167673; CG-R y AR-G, becas CONACYT n.ºs 261975 y 245147, respectivamente). También dan las gracias a Diego Alberto Olivares Hernández por la revisión y las sugerencias para mejorar la redacción del texto y a Norma Cirnes por su ayuda en la edición de las figuras.

Bibliografía

1. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106(2):171-6.
2. Brown MS, Goldstein JL. Selective versus total insulin resistance: a pathogenic paradox. *Cell Metab.* 2008;7(2):95-6.
3. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106(4):473-81.
4. Olivares-Reyes JA, Arellano-Plancarte A. Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Rev Edu Bioq.* 2008;27:9-18.
5. Odegaard JI, Chawla A. Pleiotropic actions of insulin resistance and inflammation in metabolic homeostasis. *Science.* 2013;339(6116):172-7.
6. Gribble FM. Metabolism: a higher power for insulin. *Nature.* 2005;434(7036):965-6.
7. Heesom KJ, Harbeck M, Kahn CR, Denton RM. Insulin action on metabolism. *Diabetologia.* 1997;40 Suppl 3:B3-9.
8. Bertrand L, Horman S, Beauloye C, Vanoverschelde JL. Insulin signalling in the heart. *Cardiovasc Res.* 2008;79(2):238-48.
9. Muniyappa R, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Cardiovascular actions of insulin. *Endocr Rev.* 2007;28(5):463-91.
10. Kahn AM, Husid A, Odebanmi T, Allen JC, Seidel CL, Song T. Insulin inhibits vascular smooth muscle contraction at a site distal to intracellular Ca²⁺ concentration. *Am J Physiol.* 1998;274(5 Pt 1):E885-92.
11. Zeng G, Nystrom FH, Ravichandran LV, et al. Roles for insulin receptor, PI3-kinase, and Akt in insulin-signaling pathways related to production of nitric oxide in human vascular endothelial cells. *Circulation.* 2000;101(13):1539-45.
12. Havrankova J, Roth J, Brownstein MJ. Concentrations of insulin and insulin receptors in the brain are independent of peripheral insulin levels. Studies of obese and streptozotocin-treated rodents. *J Clin Invest.* 1979;64(2):636-42.
13. Blazquez E, Velazquez E, Hurtado-Carneiro V, Ruiz-Albusac JM. Insulin in the brain: its pathophysiological implications for States related with central insulin resistance, type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Front Endocrinol.* 2014;5:161.

14. Kleinridders A, Ferris HA, Cai W, Kahn CR. Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. *Diabetes*. 2014;63(7):2232-43.
15. Davis SN, Granner DK. Insulin, Oral Hypoglycemic Agents, and the Pharmacology of the Endocrine Pancreas. En: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, eds. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10.a ed. Nueva York: McGraw-Hill; 2001. p. 1679-714.
16. de Luca C, Olefsky JM. Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett.* 2008;582(1):97-105.
17. Hubbard SR. The insulin receptor: both a prototypical and atypical receptor tyrosine kinase. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5(3):a008946.
18. Hubbard SR. Crystal structure of the activated insulin receptor tyrosine kinase in complex with peptide substrate and ATP analog. *EMBO J*. 1997;16(18):5572-81.
19. Myers MG Jr, White MF. The Molecular Basis of Insulin Action. En: Gruenberg G, Zick Y, eds. *Insulin Signaling: From cultured cells to animal models*. Nueva York: Taylor & Francis; 2002. p. 55-87.
20. Jensen M, De Meyts P. Molecular mechanisms of differential intracellular signaling from the insulin receptor. *Vitam Horm*. 2009;80:51-75.
21. White MF. Insulin signaling in health and disease. *Science*. 2003;302 (5651):1710-11.
22. Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell*. 2007;129(7):1261-74.
23. Patel N, Huang C, Klip A. Cellular location of insulin-triggered signals and implications for glucose uptake. *Pflugers Arch*. 2006;451(4):499-510.
24. Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7(2):85-96.
25. Olivares-Reyes JA. Bases moleculares del síndrome metabólico y resistencia a la insulina. En: Garibay Nieto GN, García Velasco S, eds. *Obedad en la edad pediátrica: prevención y tratamiento*. Ciudad de Méjico: Corinter; 2012. p. 185-214.
26. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001;414(6865):799-806.
27. Boulton TG, Nye SH, Robbins DJ, et al. ERKs: A family of protein-serine/threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF. *Cell*. 1991;65(4):663-75.
28. Lazar DF, Wiese RJ, Brady MJ, et al. Mitogen-activated Protein Kinase Kinase Inhibition Does Not Block the Stimulation of Glucose Utilization by Insulin. *J Biol Chem*. 1995;270(35):20801-7.
29. Bost F, Aouadi M, Caron L, et al. The extracellular signal-regulated kinase isoform ERK1 is specifically required for in vitro and in vivo adipogenesis. *Diabetes*. 2005;54(2):402-11.
30. Boura-Halfon S, Zick Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;296(4):E581-91.
31. Zick Y. Insulin resistance: a phosphorylation-based uncoupling of insulin signaling. *Trends Cell Biol*. 2001;11:437-441.
32. Boucher J, Kleinridders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(1). pii: a009191.
33. Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, et al. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. *Science*. 1999;283(5407):1544-8.
34. Klamann LD, Boss O, Peroni OD, et al. Increased energy expenditure, decreased adiposity, and tissue-specific insulin sensitivity in protein-tyrosine phosphatase 1B-deficient mice. *Mol Cell Biol*. 2000;20(15):5479-89.
35. Lu B, Gu P, Xu Y, et al. Overexpression of protein tyrosine phosphatase 1B impairs glucose-stimulated insulin secretion in INS-1 cells. *Minerva Endocrinol*. 2016;41(1):1-9.
36. Youngren J. Regulation of insulin receptor function. *Cell Mol Life Sci*. 2007;64(7-8):873-91.
37. Puig O, Tjian R. Transcriptional feedback control of insulin receptor by dFOXO/FOXO1. *Genes Dev*. 2005;19(20):2435-46.
38. Ciaraldi TP. Cellular Mechanisms of Insulin Action. En: Poretsky L, ed. *Principles of Diabetes Mellitus*. Nueva York: Springer; 2010. p. 75-87.
39. Copps KD, White MF. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia*. 2012;55(10):2565-82.
40. Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C, Sawka-Verhelle D, Hilton D, Van Obberghen E. SOCS-3 Is an Insulin-induced Negative Regulator of Insulin Signaling. *J Biol Chem*. 2000;275(21):15985-91.
41. Lebrun P, Van Obberghen E. SOCS proteins causing trouble in insulin action. *Acta Physiol*. 2008;192(1):29-36.
42. Desbuquois B, Carre N, Burnol AF. Regulation of insulin and type 1 insulin-like growth factor signaling and action by the Grb10/14 and SH2B1/B2 adaptor proteins. *FEBS J*. 2013;280(3):794-816.
43. Cariou B, Capitaine N, Le Marcis V, et al. Increased adipose tissue expression of Grb14 in several models of insulin resistance. *FASEB J*. 2004;18(9):965-7.
44. Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(8):4240-5.
45. Carracedo A, Pandolfi PP. The PTEN-PI3K pathway: of feedbacks and cross-talks. *Oncogene*. 2008;27(41):5527-41.
46. Shi Y, Wang J, Chandrarapathy S, et al. PTEN is a protein tyrosine phosphatase for IRS1. *Nat Struct Mol Biol*. 2014;21(6):522-27.
47. Suwa A, Kurama T, Shimokawa T. SHIP2 and its involvement in various diseases. *Expert Opin Ther Targets*. 2010;14(7):727-37.
48. Dyson JM, Fedele CG, Davies EM, Becanovic J, Mitchell CA. Phosphoinositide phosphatases: just as important as the kinases. *Subcell Biochem*. 2012;58:215-79.
49. Montagnani M, Ravichandran LV, Chen H, Esposito DL, Quon MJ. Insulin receptor substrate-1 and phosphoinositide-dependent kinase-1 are required for insulin-stimulated production of nitric oxide in endothelial cells. *Mol Endocrinol*. 2002;16(8):1931-42.
50. Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeiher AM. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature*. 1999;399(6736):601-5.
51. Lee JH, Ragolia L. AKT phosphorylation is essential for insulin-induced relaxation of rat vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;291(6):C1355-65.
52. Zick Y. Ser/Thr phosphorylation of IRS proteins: a molecular basis for insulin resistance. *Sci STKE*. 2005;2005(268):pe4.
53. Kido Y, Burks DJ, Withers D, et al. Tissue-specific insulin resistance in mice with mutations in the insulin receptor, IRS-1, and IRS-2. *J Clin Invest*. 2000;105(2):199-205.
54. Chavez JA, Knott TA, Wang LP, et al. A role for ceramide, but not diacylglycerol, in the antagonism of insulin signal transduction by saturated fatty acids. *J Biol Chem*. 2003;278(12):10297-303.
55. Salinas M, López-Valdaliso R, Martín D, Alvarez A, Cuadrado A. Inhibition of PKB/Akt1 by C2-Ceramide Involves Activation of Ceramide-Activated Protein Phosphatase in PC12 Cells. *Mol Cell Neurosci*. 2000;15(2):156-69.
56. Chavez Jose A, Summers Scott A. A Ceramide-Centric View of Insulin Resistance. *Cell Metab*. 2012;15(5):585-94.
57. Stratford S, Hoehn KL, Liu F, Summers SA. Regulation of insulin action by ceramide: dual mechanisms linking ceramide accumulation to the inhibition of Akt/protein kinase B. *J Biol Chem*. 2004;279(35):36608-15.
58. Bourbon NA, Sandrasegarane L, Kester M. Ceramide-induced Inhibition of Akt Is Mediated through Protein Kinase C ζ : IMPLICATIONS FOR GROWTH ARREST. *J Biol Chem*. 2002;277(5):3286-92.
59. Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med*. 2013;7(1):14-24.
60. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA*. 1999;282(22):2131-5.
61. Park HS, Park JY, Yu R. Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005;69(1):29-35.
62. Xu H, Barnes GT, Yang Q, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*. 2003;112(12):1821-30.
63. 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(12):1796-808.
64. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. 2004;92(3):347-55.
65. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1793-801.
66. Ouchi N, Parker JL, Lugo JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):85-97.
67. Soumaia K. Molecular Mechanisms of Insulin Resistance in Diabetes. En: Ahmad S, ed. *Diabetes*. Nueva York: Springer; 2013. p. 240-51.
68. Esposito K, Pontillo A, Cirotta M, et al. Weight loss reduces interleukin-18 levels in obese women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(8):3864-6.
69. Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N. The renin-angiotensin system: a link between obesity, inflammation and insulin resistance. *Obes Rev*. 2012;13(2):136-49.
70. Steppan CM, Wang J, Whiteman EL, Birnbaum MJ, Lazar MA. Activation of SOCS-3 by resistin. *Mol Cell Biol*. 2005;25(4):1569-75.
71. Plomgaard P, Bouzakri K, Krogh-Madsen R, Mitterendorfer B, Zierath JR, Pedersen BK. Tumor necrosis factor-alpha induces skeletal muscle insulin resistance in healthy human subjects via inhibition of Akt substrate 160 phosphorylation. *Diabetes*. 2005;54(10):2939-45.
72. Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, et al. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem*. 2003;278(16):13740-6.
73. Kwon H, Pessin JE. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4:71.
74. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006;116(11):3015-25.
75. Himes RW, Smith CW. Tlr2 is critical for diet-induced metabolic syndrome in a murine model. *FASEB J*. 2010;24(3):731-9.
76. Johnson AM, Olefsky JM. The origins and drivers of insulin resistance. *Cell*. 2013;152(4):673-84.

77. Suganami T, Mieda T, Itoh M, Shimoda Y, Kamei Y, Ogawa Y. Attenuation of obesity-induced adipose tissue inflammation in C3H/HeJ mice carrying a Toll-like receptor 4 mutation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;354(1):45-9.
78. Watanabe Y, Nagai Y, Takatsu K. Activation and regulation of the pattern recognition receptors in obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Nutrients.* 2013;5(9):3757-78.
79. Holland WL, Bikman BT, Wang LP, et al. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(5):1858-70.
80. Banhegyi G, Baumeister P, Benedetti A, et al. Endoplasmic reticulum stress. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1113:58-71.
81. Eizirik DL, Cardozo AK, Cnop M. The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Endocr Rev.* 2008;29(1):42-61.
82. Guerrero-Hernandez A, Leon-Aparicio D, Chavez-Reyes J, Olivas-Reyes JA, DeJesus S. Endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes. *Cell Calcium.* 2014;56(5):311-22.
83. Yalcin A, Hotamisligil GS. Impact of ER protein homeostasis on metabolism. *Diabetes.* 2013;62(3):691-93.
84. Fu S, Watkins SM, Hotamisligil GS. The role of endoplasmic reticulum in hepatic lipid homeostasis and stress signaling. *Cell Metab.* 2012;15(5):623-34.
85. Sommerweiss D, Gorski T, Richter S, Garten A, Kiess W. Oleate rescues INS-1E β -cells from palmitate-induced apoptosis by preventing activation of the unfolded protein response. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;441(4):770-6.
86. Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell.* 2010;140(6):900-17.
87. Hu P, Han Z, Couvillon AD, Kaufman RJ, Exton JH. Autocrine tumor necrosis factor alpha links endoplasmic reticulum stress to the membrane death receptor pathway through IRE1alpha-mediated NF- κ B activation and down-regulation of TRAF2 expression. *Mol Cell Biol.* 2006;26(8):3071-84.
88. Urano F, Wang X, Bertolotti A, et al. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science.* 2000;287(5453):664-6.
89. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature.* 2002;420(6913):333-6.
90. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, et al. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. *Science.* 2001;293(5535):1673-7.
91. Perseghin G, Petersen K, Shulman GI. Cellular mechanism of insulin resistance: potential links with inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27 Suppl 3:S6-11.
92. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science.* 2004;306(5695):457-61.
93. Nakatani Y, Kaneto H, Kawamori D, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes. *J Biol Chem.* 2005;280(1):847-51.
94. Boden G, Song W, Duan X, et al. Infusion of glucose and lipids at physiological rates causes acute endoplasmic reticulum stress in rat liver. *Obesity.* 2011;19(7):1366-73.
95. Sharma NK, Das SK, Mondal AK, et al. Endoplasmic reticulum stress markers are associated with obesity in nondiabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4532-41.
96. Gregor MF, Yang L, Fabbriani E, et al. Endoplasmic reticulum stress is reduced in tissues of obese subjects after weight loss. *Diabetes.* 2009;58(3):693-700.
97. Yoshida H. ER stress and diseases. *FEBS J.* 2007;274(3):630-58.
98. Ozcan U, Yilmaz E, Ozcan L, et al. Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes. *Science.* 2006;313(5790):1137-40.
99. Kammoun HL, Chabanon H, Hainault I, et al. GRP78 expression inhibits insulin and ER stress-induced SREBP-1c activation and reduces hepatic steatosis in mice. *J Clin Invest.* 2009;119(5):1201-15.
100. Ozawa K, Miyazaki M, Matsuhisa M, et al. The Endoplasmic Reticulum Chaperone Improves Insulin Resistance in Type 2 Diabetes. *Diabetes.* 2005;54(3):657-63.
101. Xiao C, Giacca A, Lewis GF. Sodium Phenylbutyrate, a Drug With Known Capacity to Reduce Endoplasmic Reticulum Stress, Partially Alleviates Lipid-Induced Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction in Humans. *Diabetes.* 2011;60(3):918-24.
102. Kars M, Yang L, Gregor MF, et al. Tauroursodeoxycholic Acid May Improve Liver and Muscle but Not Adipose Tissue Insulin Sensitivity in Obese Men and Women. *Diabetes.* 2010;59(8):1899-905.
103. Caspersen C, Pedersen PS, Treiman M. The sarco/endoplasmic reticulum calcium-ATPase 2b is an endoplasmic reticulum stress-inducible protein. *J Biol Chem.* 2000;275(29):22363-72.
104. Park SW, Zhou Y, Lee J, Ozcan U. Sarco(endo)plasmic reticulum Ca $^{2+}$ -ATPase 2b is a major regulator of endoplasmic reticulum stress and glucose homeostasis in obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(45):19320-5.
105. Randriamboavony J, Pistrosch F, Bolck B, et al. Platelet sarcoplasmic endoplasmic reticulum Ca $^{2+}$ -ATPase and mu-calpain activity are altered in type 2 diabetes mellitus and restored by rosiglitazone. *Circulation.* 2008;117(1):52-60.
106. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science.* 2005;307(5708):384-7.
107. Pagel-Langenickel I, Bao J, Pang L, Sack MN. The role of mitochondria in the pathophysiology of skeletal muscle insulin resistance. *Endocr Rev.* 2010;31(1):25-51.
108. Montgomery MK, Turner N. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update. *Endocrine Connect.* 2015;4(1):R1-R15.
109. Morino K, Petersen KF, Dufour S, et al. Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *J Clin Invest.* 2005;115(12):3587-93.
110. Cheng Z, Guo S, Copps K, et al. Foxo1 integrates insulin signaling with mitochondrial function in the liver. *Nat Med.* 2009;15(11):1307-11.
111. Dong XC, Copps KD, Guo S, et al. Inactivation of hepatic Foxo1 by insulin signaling is required for adaptive nutrient homeostasis and endocrine growth regulation. *Cell Metab.* 2008;8(1):65-76.
112. Long YC, Cheng Z, Copps KD, White MF. Insulin receptor substrates Irs1 and Irs2 coordinate skeletal muscle growth and metabolism via the Akt and AMPK pathways. *Mol Cell Biol.* 2011;31(3):430-41.
113. Ruderman NB, Carling D, Prentki M, Cacicedo JM. AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2013;123(7):2764-72.
114. Wei Y, Sowers JR, Nistala R, et al. Angiotensin II-induced NADPH Oxidase Activation Impairs Insulin Signaling in Skeletal Muscle Cells. *J Biol Chem.* 2006;281(46):35137-46.
115. Wei Y, Sowers JR, Clark SE, Li W, Ferrario CM, Stump CS. Angiotensin II-induced skeletal muscle insulin resistance mediated by NF- κ B activation via NADPH oxidase. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008;294(2):E345-51.
116. Kim JA, Wei Y, Sowers JR. Role of Mitochondrial Dysfunction in Insulin Resistance. *Circ Res.* 2008;102(4):401-14.