



Artículo de revisión

Vinculando la respuesta inflamatoria, la obesidad y la diabetes con la sobrecarga (estrés) del retículo endoplásmico a través de las acciones de la selenoproteína S

Raúl A Bastarrachea,* Joanne E Curran,* Victoria Eugenia Bolado,** Jack Kent Jr,* Juan Carlos López-Alvarenga,* Jorge Téllez-Mendoza,*** John Blangero,* Anthony G Comuzzie*

- * Department of Genetics, Auxology and Metabolism Working Group. Southwest Foundation for Biomedical Research. San Antonio, Texas, USA.
** Servicio de Medicina Interna. Hospital General Regional "Gabriel Mancera" IMSS México, D.F. Mex.
*** Clínica para el Estudio y Tratamiento de la Diabetes y Obesidad. México, D.F. Méx.

Correspondencia:

Raúl A. Bastarrachea, M.D.
Department of Genetics
Southwest Foundation for
Biomedical Research
7620 NW Loop 410 at Military Drive
San Antonio, Texas, USA 78227-5301
E-mail: raulbs@darwin.sfbr.org

Fecha de recepción: 2-Mayo-2005
Fecha de aceptación: 22-Junio-2006

Resumen

El componente inflamatorio de la obesidad y la diabetes (DMT2) se ha establecido firmemente debido al descubrimiento de los vínculos causales entre mediadores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la señalización del receptor de insulina, así como por la elucidación de mecanismos moleculares subyacentes mediados transcripcional y postranscripcionalmente por la cinasa c-Jun NH2-terminal (JNK) y el inhibidor de la cinasa del factor nuclear-kappa β modificado por IKK, cuyas funciones y expresión inhiben las acciones de la insulina. Ha sido demostrado recientemente que el retículo endoplásmico (ER) es el sitio clave donde las señales metabólicas son procesadas, integradas y transmitidas en forma de señales de sobrecarga o estrés, que dan lugar a la activación de JNK, IKK y, posiblemente, otros mecanismos inflamatorios. La eliminación de las proteínas ensambladas erróneamente (mal ensambladas) en el ER por retrotranslocación es una adaptación fisiológica muy importante para poder corregir la sobrecarga o congestión (estrés) del retículo endoplásmico. Una nueva proteína llamada selenoproteína S de mamíferos ha sido recientemente identificada. Sus funciones putativas sobre la respuesta al estrés (sobrecarga) del retículo endoplásmico se encuentran íntimamente vinculadas a la respuesta inmune y a las vías de señalización inflamatorias. Dicha proteína es codificada por SEPS1 (también conocido como VIMP), que es un gen involucrado en la respuesta a la sobrecarga (estrés) del retículo endoplásmico, con participación también en el control inflamatorio. En este artículo presentaremos los vínculos entre la sobrecarga (estrés), la inflamación, las selenoproteínas y la enfermedad metabólica, particularmente la diabetes mellitus tipo 2 y discutiremos el impacto de la variación genética en la selenoproteína S y su influencia en la regulación de la respuesta inflamatoria.

Palabras clave: Inflamación, sobrecarga, selenoproteína S, SEPS1, obesidad y diabetes.
Revista de Endocrinología y Nutrición 2006; 14(2): 89-101.

Abstract

The inflammatory component in obesity and diabetes is now firmly established with the discovery of causal links between inflammatory mediators, such as tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and insulin receptor signaling and the elucidation of the underlying molecular mechanisms, such as c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) and inhibitor of nuclear factor-kappa β kinase-mediated transcriptional and post-translational modifications (IKK) that inhibit insulin action. It has been recently demonstrated that the endoplasmic reticulum (ER) might be a key site where the metabolic signals are sensed, integrated, and transmitted in the form of stress signals, including activation of JNK, IKK, and possibly other pathways. Elimination of misfolded proteins from the endoplasmic reticulum (ER) by retro-translocation is an important physiological adaptation to ER stress. A new protein named mammalian selenoprotein S has been recently identified. It putatively functions in the stress responses of the endoplasmic reticulum (ER) that are linked to the immune and inflammatory signaling pathways. It is encoded by SEPS1 (also called VIMP), a gene involved in stress response in the endoplasmic reticulum and inflammation control. This

article will review the link between stress, inflammation, selenoproteins and metabolic disease, particularly type 2 diabetes, and discuss the impact of genetic variation in selenoprotein S and its influence in regulating the inflammatory response.

Key words: Inflammation, stress, selenoprotein S, SEPS1, obesity and diabetes.
Revista de Endocrinología y Nutrición 2006; 14(2): 89-101.

INTRODUCCIÓN

La respuesta inflamatoria normal requiere de un apropiado soporte metabólico y de una eficaz redistribución de energía. Particularmente la movilización de las reservas de grasa juega un papel muy importante en el combate a las infecciones durante la respuesta de fase aguda. De esta manera, la respuesta inflamatoria básica, favorece un estado catabólico y suprime las vías anabólicas, tales como la altamente conservada vía de señalización de la insulina. La integración de la respuesta inmune con un balance metabólico adecuado, es benéfico para el mantenimiento de un buen estado de salud, sin embargo, puede convertirse en deletéreo bajo condiciones de alteración en la demanda metabólica.¹

La prevalencia de la obesidad en nuestra sociedad moderna e industrializada se ha incrementado dramáticamente y ha desarrollado características de una pandemia. La obesidad es el resultado de un estilo de vida sedentario y de incremento en la ingestión energética, que caracteriza a las comunidades occidentales. Con la aparición de esta sobrecarga metabólica crónica, ocurre una intersección entre el metabolismo y la inmunidad donde se incluyen a la misma obesidad y otras enfermedades asociadas (que hoy en día se acepta) cursan con un fuerte componente inflamatorio, tales como la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), enfermedad de hígado graso y la aterosclerosis. Existe actualmente una amplia gama de evidencia que demuestra la estrecha conexión entre los sistemas metabólico e inmune² (*Cuadro I*).

CITOCINAS INFLAMATORIAS, TEJIDO ADIPOSO Y ACCIONES DE LA INSULINA

La repuesta inflamatoria en la obesidad es de bajo grado y progresa muy lentamente, por lo que incrementa el riesgo de dañar múltiples sistemas, incluyendo a aquellos involucrados en la homeostasis de la glucosa. Evidencias claves que establecen que la inflamación crónica tiene un papel patológico en la obesidad y la DMT2 han surgido recientemente:

a) La sobreproducción de TNF- α en el tejido adiposo es una característica importante de la obesidad y contribuye significativamente a la resistencia a la insulina. La administración de TNF- α recombinante en cultivos celu-

lares o en animales resulta en resistencia a la acción de la insulina, mientras que un bloqueo bioquímico, farmacológico o genético a las acciones del TNF- α , da lugar a incremento de la sensibilidad a la insulina.^{3,4}

- b) Los familiares de primer grado de individuos obesos con resistencia a la insulina o DMT2 muestran concentración elevada en suero de TNF- α , interleucina-6, proteína C-reactiva e inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1).^{5,6}
- c) La presencia de enfermedades inflamatorias crónicas, tales como la artritis reumatoide o la hepatitis, incrementan significativamente el riesgo de desarrollar resistencia a la insulina y DMT2.^{7,8}
- d) Se ha podido determinar la presencia de macrófagos infiltrando el tejido adiposo de pacientes obesos.⁹ Estos grupos celulares están coordinados y sobrepone funciones biológicas. Los macrófagos capturan y almacenan lípidos hasta convertirse en células espumosas que juegan un papel relevante en la aparición de las placas ateromatosas. Los preadipocitos, bajo ciertas circunstancias, pueden exhibir propiedades fagocíticas y antimicrobianas, y hasta parece ser que pueden diferenciarse en macrófagos en un ambiente apropiado, lo que reafirma el papel potencial inmunológico de los preadipocitos. La integración de los macrófagos y los adipocitos tiene sentido, dado que ambos participan en la respuesta inmune innata: los macrófagos se dirigen a destruir patógenos y secretar citocinas inflamatorias y quimiocinas; y los adipocitos liberan lípidos que modulan el estado inflamatorio y participan en la neutralización de agentes patógenos.^{10,11}

Cuadro I. Manifestaciones clínicas de resistencia a la insulina.

Intolerancia a la glucosa (Disglucemia) y DMT2 (HbA1c elevada)
 Dislipidemia (HDL disminuida, triglicéridos elevados, OxLDL)
 Disfunción endotelial (Estrés oxidativo, ICAM, VCAM y CRP elevadas)
 Aterotrombosis (PAI-1 y fibrinógeno elevado)
 Enfermedad arterial coronaria
 Hiperactivación del eje HPA-Cortisol
 Síndrome de ovarios poliquísticos
 Enfermedad hepática no alcohólica
 Ciertas formas de cáncer (ej. CA de mama)

e) La adiponectina, resistina y visfatina son hormonas producidas por el tejido adiposo y participan en la interfase de los sistemas metabólico e inmune.^{1,2}

Visto en conjunto, parece existir sin lugar a dudas, un consenso general respecto al origen inflamatorio de la obesidad y la DMT2² (Figura 1).

MECANISMOS MOLECULARES QUE VINCULAN LAS VÍAS INFLAMATORIAS CON LA ACCIÓN DE LA INSULINA

En la mayoría de los individuos obesos o que padecen de DMT2 el principal defecto en la acción de la insulina se localiza a nivel post-receptor.¹² La acción de la insulina en el post-receptor se ve alterada por el aumento de TNF- α y los ácidos grasos libres (FFA), los que inhiben la fosforilación del sustrato del receptor de insulina 1 (IRS-1) en los residuos de serina.¹³ A su vez, la falta de activación de serina del IRS-1 reduce la fosforilación de tirosina del IRS-1 en respuesta a la insulina, suprimiendo de esta manera la señalización molecular intracitosólica apropiada de esta hormona, causando resistencia a sus acciones.¹⁴ Se han investigado varios mediadores responsables de estas modificaciones, lo que ha enriquecido el conocimiento sobre las señales críticas intracelulares que determinan la resistencia a la insulina.

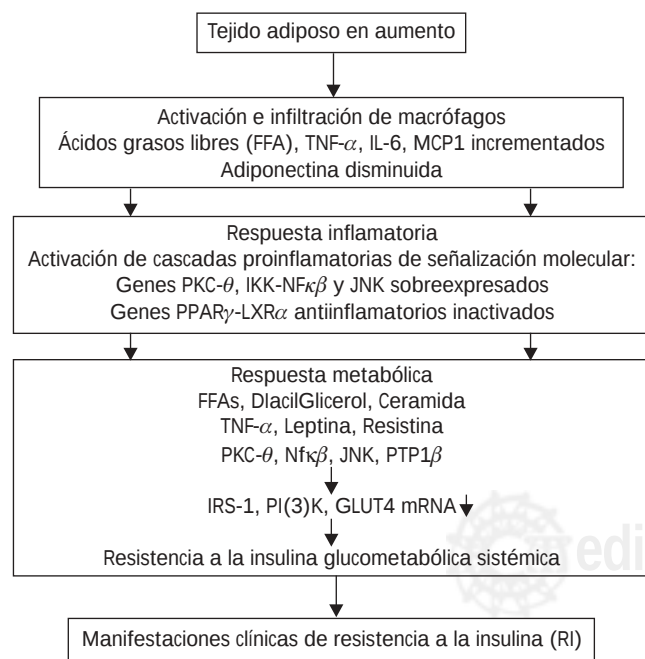


Figura 1. La obesidad se asocia a un estado inflamatorio crónico, de bajo grado.

Varias cinasas de serina/treonina que son activadas por estímulos inflamatorios o de sobrecarga (estrés), contribuyen a la inhibición de la señalización de la insulina.¹ Éstas incluyen la cinasa de c-jun NH2-terminal (JNK), el inhibidor de la cinasa del factor nuclear kappa beta (IKK) y la cinasa de proteína C-θ. La activación de estas cinasas inflamatorias en la obesidad y su participación en las acciones de la insulina ilustran la estrecha relación entre las vías metabólica e inmune. En particular, las cinasas IKK y JNK controlan las vías de respuesta inflamatoria más relevantes, son activadas por una amplia variedad de señales de sobrecarga (estrés) y median la respuesta inmune innata.^{1,15,16} Tanto la JNK como el IKK son esenciales, requiriéndose de su constante activación y expresión genética para que el TNF- α induzca resistencia a la insulina en las células. Así mismo, la supresión o bloqueo de una o la otra, incrementa la sensibilidad a las acciones de la insulina.¹⁷⁻¹⁹ Las tres enzimas (JNK, IKK y PKC-θ) son capaces de incrementar fuertemente la fosforilación de serina-IRS-1 y alterar perfiles deletéreos de expresión genética inflamatoria²⁰⁻²² (Figura 1).

SOBRECARGA (ESTRÉS) DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO, OBESIDAD Y DIABETES

El retículo endoplásmico (ER) juega un papel esencial en la biosíntesis de proteínas destinadas a la secreción o inserción en membranas en células eucariotas. Este organelo unido a la membrana nuclear puede reclutar ribosomas para la traducción del ARN en proteínas, translocar péptidos a su lumen, promover una amplia variedad de modificaciones postraduccionales y facilitar eventos de ensamblaje proteínico facilitado por las chaperonas. El ER es el sitio donde las proteínas, todavía inmaduras, penetran al compartimento secretor donde finalizarán su ensamblaje. Por otro lado, el ER controla indirectamente la capacidad y habilidad del sistema de endomembranas o sistema endocítico completo. El ER es considerado la fábrica productora de proteínas de células en mamíferos, y tiene la característica de ser un importante sensor de la sobrecarga (estrés) metabólica que puede en un momento dado, volver ineficaz la acción de la insulina para mantener el sistema homeostático de la glucosa en límites normales, por poner un ejemplo.^{23,24}

Las agresiones biológicas tales como infección, hipoxia, privación nutricional y exposición a toxinas químicas o un exceso de lípidos, pueden trastornar o alterar la homeostasis del ER, provocando una actividad errónea en el ensamblaje proteínico, causando que estas proteínas mal ensambladas se acumulen en gran cantidad en el lumen del ER, dando como resultado sobrecarga (estrés) o congestión proteínica. En condiciones fisiológicas, al aumentar las demandas metabólicas, como sería un au-

mento progresivo en la acumulación de grasa o una demanda aumentada de secreción de insulina en la célula beta, aumenta consecuentemente la carga de trabajo de esta fábrica de proteínas. Para aliviar esta sobrecarga, el retículo endoplásmico inicia un programa transcripcional denominado **respuesta a mal ensamblaje proteico** (*unfolded protein response* o **UPR** por sus siglas en inglés) diseñado específicamente para disminuir o detener la síntesis de proteínas y para promover su rápida degradación.²³

La respuesta UPR combina la habilidad del ER para ensamblar y procesar proteínas clientes (capacidad) con las facultades y suficiente competencia del organelo para poder manejar la carga de proteínas que se acumulan en su lumen en un momento dado (demanda). O sea, mantiene un balance entre la capacidad y la demanda. Esta capacidad es establecida por la agenda fisiológica de la célula y puede ser influenciada por mutaciones que afectan la habilidad del ER para poder ensamblar proteínas. La demanda está determinada por las enzimas complementarias y los componentes estructurales que llevan a cabo muchas funciones del ER, y que se encargan de tener listas las proteínas desde el punto de vista funcional o prepararlas para su degradación en el proteosoma. En resumen, las condiciones de sobrecarga (estrés), acumulación excesiva o congestión proteica que interfiere con la homeostasis del ER, inician una respuesta de señalización interna denominado UPR que resulta en una disminución de la tasa de traducción o síntesis de proteínas para prevenir una acumulación posterior de proteínas mal ensambladas y una disrupción de la homeostasis en el ER. Simultáneamente, factores de transcripción son activados para inducir la expresión de las chaperonas residentes en el ER, que se hacen cargo de los agregados proteicos que se han acumulado. Estas proteínas chaperonas trabajan conjuntamente con un aparato o sistema interno específico del ER para degradar proteínas, que se activa también al mismo tiempo, y se encarga de eliminar las proteínas desnaturalizadas. Esta respuesta coordinada detiene la síntesis y acumulación de proteínas y da tiempo para la eliminación de las proteínas mal ensambladas, restableciendo de esta manera, la homeostasis celular.²⁴

Este complejo sistema de respuestas fisiológicas, sensor inmediato y constante a la sobrecarga del ER, es regulada por unos cuantos genes que expresan proteínas transmembrana: la proteína reclutadora de inositol 1 (*inositol requiring 1* o *IRE-1* por sus siglas en inglés), la cinasa del retículo endoplásmico semejante al PKR/cinasa pancreática eIF2 α (*PKR-like endoplasmic reticulum kinase/pancreatic eIF2 α kinase* o *PERK/PEK* por sus siglas en inglés) y el factor de transcripción activador 6 (*activating transcription factor 6* o *ATF6* por sus siglas en inglés). En organismos multicelulares, si las respues-

tas adaptativas no son suficientes para aliviar la carga de proteínas mal ensambladas (sobrecarga o estrés del ER), la célula se programa para activar cualquiera de las vías de muerte celular programada, apoptosis o necrosis. Se ha obtenido evidencia muy reciente avalando que la respuesta UPR no sólo promueve la supervivencia de las células en respuesta a la sobrecarga (estrés) del ER, sino que también proporciona un mecanismo esencial para detectar nutrientes y promover la diferenciación celular^{23,24} (Figura 2).

El mecanismo de señalización para la respuesta UPR sigue esta secuencia: cuando empieza a existir una acumulación excesiva de proteínas mal ensambladas en el lumen del ER, se activa el factor ATF6, dirigiéndose al aparato de Golgi y migrando al núcleo para activar genes de respuesta transcripcional, principalmente el gen que expresa la proteína ligadora de la caja X (*X-box-binding-protein* o *XBP1* por sus siglas en inglés), que modula la respuesta UPR y la hace más efectiva. En paralelo, IRE-1 dimeriza y activa su propiedad de endorribonucleasa. Su acción se centra en desmembrar su sustrato, el mRNA de XBP1, eliminándole un pequeño intrón, que cambia el marco de lectura traduccional del XBP1. Al mismo tiempo, PERK es activado y fosforila a F2 α . La dimerización y autofosforilación de PERK, junto con la fosforilación de eIF2 α resulta en la inhibición generalizada de la traducción, siendo éste un paso clave en detener la síntesis proteínica^{23,24} (Figura 2).

La obesidad impone un exceso de trabajo constante en la maquinaria del ER, al grado de desencadenar una serie de respuestas moleculares intracitosólicas inapropiadas que activan la JNK, la NF- κ B, y la PKC- θ , alterando de esta manera, las vías de señalización de la insulina. El soporte de esta hipótesis proviene de modelos genéticos en roedores en los cuales la respuesta a la sobrecarga del ER ha sido modificada alterando la expresión del sensor proximal de sobrecarga del ER, el IRE-1, o alterando la del XBP1, el factor de transcripción que modula la respuesta secundaria al ensamblaje inapropiado de proteínas. En cultivos de fibroblastos de embriones de ratones deficientes de IRE-1, a los que se les bloquea la expresión genética de esta proteína por técnicas de ingeniería genética denominadas knock out, cuando se exponen sus retículos endoplásmicos a sustancias químicas que se conoce causan sobrecarga (estrés) de los mismos, nunca se pudo activar JNK, y por consiguiente, las células fueron protegidas para no desarrollar resistencia a la insulina. Efectos protectores similares fueron observados en cultivos de células hepáticas que sobreexpresaron XBP1, por lo que dichas células estuvieron mejor preparadas para adaptarse a una sobrecarga (estrés) del ER. En estas células, un incremento de XBP1 pudo prevenir la activación de la JNK en respuesta al daño químico

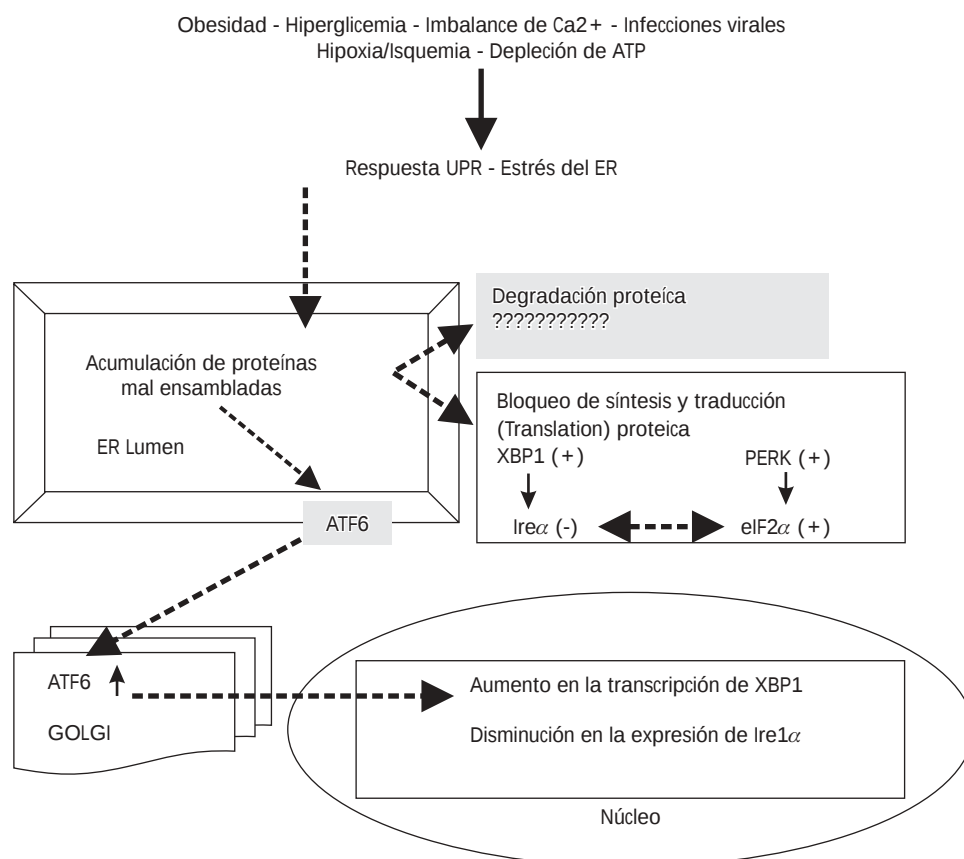


Figura 2. Respuesta UPR fisiológico-molecular a mal ensamblaje proteico en el retículo endoplásmico (ER): UPR aliviando el congestionamiento proteico (sobrecarga o estrés del ER).

experimental, presumiblemente debido a una mejor modulación de la respuesta UPR. Más aún, la eliminación heterocigota de XBP1 en una cepa de ratones normalmente resistentes a diabetes inducida por dieta, ocasionó que dichos roedores desarrollaran diabetes. El incremento en la susceptibilidad de estos ratones heterocigotos que no expresaban la proteína XBP1 fue asociada con sobrecarga crónica del ER, hiperactivación de la JNK y alteración en la señalización de la insulina en el hígado.²⁵ Estos hallazgos también demuestran cómo la sobrecarga del ER podría explicar las alteraciones en los tejidos asociados a la aparición de la diabetes. En efecto, la interrupción de los eventos de señalización involucrados en aliviar la sobrecarga del ER como sería la fosforilación de eIF2α por PERK, resulta en una severa alteración funcional de las células beta del páncreas.²⁶

Los conceptos descritos sugieren que las respuestas a la sobrecarga del ER están vinculadas estrechamente a la señalización del receptor de insulina y a la acción de esta hormona, y que la alteración o modificación de la respuesta UPR tiene un impacto significativo en la sensibilidad a la insulina sistémica. En todos estos modelos, el incremento en la sobrecarga del ER fue asociado a una alteración en la señalización del receptor de insuli-

na en sus tejidos blanco. Estos resultados también sugieren que la sobrecarga (estrés) del ER es un elemento central en la obesidad, desde el punto de vista de la biología molecular.^{27,28}

EL GEN SEPS1 JUEGA UN PAPEL PRIMORDIAL EN LA SOBRECARGA (ESTRÉS) DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO (ER)

Un excelente modelo animal para el estudio de la obesidad y la DMT2 es la rata del desierto israelí *Psammomys obesus* (*P. obesus*). Estos animales son nativos del norte de África y del Medio Oriente y, en estado salvaje, son delgados y normoglucémicos. En estado de cautiverio en laboratorio y alimentados con una dieta convencional, el 50% de los adultos desarrolla obesidad a las 16 semanas de edad, y de ellos, el 30% desarrolla DMT2. Usando técnicas de despliegado diferencial de ARN mensajero (*differential display* o ddPCR) en este modelo animal, se ha encontrado un nuevo gen con propiedades que parecen jugar un papel clave en la fisiopatología de la DMT2. Este nuevo gen fue llamado *tanis*, que en hebreo significa "ayuno". Su expresión primaria es en el hígado y está notablemente incrementado en las ratas *P. obesus* diabé-

ticas en estado de ayuno. La secuencia completa del ARNm de *tanis* en *P. obesus* ha sido obtenida y consiste en 1,155 pares de bases y la proteína codificada consta de 189 aminoácidos.^{29,30} El gen humano correspondiente ha sido localizado en el cromosoma 15q26.3 y la proteína humana *tanis*/SEPS1 fue estimada en 187 aminoácidos de largo, con un peso molecular de 21 kDa.^{29,30} El homólogo humano de *tanis* fue identificado poco después como la *selenoproteína de mamíferos S* (codificada por *SEPS1*, también llamado *SELS* o *VIMP*).^{31,32}

La expresión hepática de *tanis* luego de 24 horas de ayuno en *P. obesus* diabéticos, mostró un incremento 3 veces mayor en comparación con el grupo control de ratas del desierto no diabéticas. Empleando un análisis de regresión lineal múltiple se demostró que sólo las concentraciones de glucosa sanguínea tuvieron asociación independientemente con la expresión de *tanis*. Tomando estos datos en conjunto, los resultados son evidencia que la concentración de niveles de glucosa regula la expresión hepática de *tanis* y que este gen se expresa diferencialmente en la DMT2. Una observación muy interesante es la fuerte interacción entre la proteína *tanis* y el reactante de fase aguda hepático denominado amiloide sérico A (SAA). Parece ser que *tanis* posee propiedades de receptor que le permiten unirse a la proteína inflamatoria SAA. Ésta y otras proteínas de fase aguda (fibrinógeno, proteína C-reactiva), se han vuelto recientemente el centro de atención como marcadores de riesgo para la enfermedad cardiovascular aterotrombótica. Los autores sospechan que *tanis* y la proteína de fase aguda SAA pueden ser un vínculo importante entre la obesidad, la DMT2, la inflamación y la enfermedad cardiovascular. Las características descritas de *tanis* fueron confirmadas tiempo después para su homólogo humano SEPS1 en estudios de tejido adiposo humano, proveniente de individuos diabéticos y no diabéticos después de estimulación *in vivo* con insulina.³³

Estos resultados sugieren que SEPS1 y su producto proteínico, la selenoproteína S, juegan un papel preponderante en las vías inflamatorias. También sugieren que este gen interviene en la respuesta a la sobrecarga (estrés) del ER, vinculada a las vías de señalización de la inmunidad y la inflamación. El papel crucial de SEPS1 es proteger la integridad funcional del ER contra elementos que le producen sobrecarga (estrés) ha sido recientemente aclarado (Figura 3). SEPS1 ha sido clasificada como una nueva proteína de membrana del ER que participa en el procesamiento y remoción de proteínas mal ensambladas desde el retículo endoplásmico hacia el citosol, donde son poliubiquinadas y degradadas a través de proteosomas. Como se mencionó anteriormente, la eliminación de proteínas mal ensambladas del ER por retro-translocación es una adaptación fisiológica importante a la sobrecarga (estrés) del ER.

El concepto de sobrecarga (estrés) del ER contribuye a entender parte de la fisiopatología de la enfermedad cardiovascular, la obesidad, la diabetes, y el cáncer entre otras patologías altamente prevalentes y devastadoras.³⁴ El bloqueo de la retro-translocación da lugar a una congestión o acúmulo de proteínas intraluminal en el ER que desencadena la respuesta fisiológica UPR, la colección de vías de señalización que permite a todas las células del organismo adaptarse, poder lidiar y hacer frente a una sobrecarga (estrés) de proteínas en el ER.^{23,24} (Figura 4).

Uno de los componentes mejor caracterizados de la maquinaria de retrotranslocación, es el gen que expresa la proteína ATPasa p97 citosólica (también llamada VCP o, en levaduras, Cdc48). Esta proteína interactúa con un complejo de cofactores que consiste en las proteínas Ufd1 y Np14.³⁵ Cualquier sustrato que es transportado por retrotranslocación desde el ER hacia el citosol, es inmediatamente poliubiquinado y posteriormente reconocido por esta proteína ATPasa p97 citosólica y sus cofactores. Experimentos previos han demostrado la asociación en la membrana del ER entre la ATPasa p97 y sus cofactores proteicos Ufd1/Np14, sugiriendo la existencia de un receptor de membrana para acoplarlos.³⁶ La ATPasa p97 probablemente se encarga de movilizar su sustrato hacia afuera de la membrana del ER dirigiéndolo hacia el citosol por un mecanismo similar al propuesto para las proteasas AAA en la mitocondria y las bacterias.³⁷

En fechas recientes, se descubrió otra proteína relacionada con la familia Der1 (por *degradación en el ER*). Fue identificada en un tamiz genético donde se dilucidaban cuáles eran los componentes proteínicos requeridos para la degradación de proteínas mal ensambladas en el lumen del ER. Esencialmente se conoce muy poco acerca de las funciones de esta nueva proteína, excepto que es requerida para la degradación de otros sustratos y que aumenta su expresión cuando existe sobrecarga (estrés) del ER.³⁸ Los autores denominaron a este homólogo de Der1, *Derlin-1* para indicar que es similar a Der1. Homólogos de Der-1 han sido encontrados en todos los organismos eucariotas. Parece que la proteína *Derlin-1* de mamíferos tiene cuatro segmentos transmembrana con ambas terminales amino y carboxi en el citosol.³⁹

Una proteína más ha sido identificada en vertebrados secundaria a la búsqueda de proteínas que contienen selenocisteína. El primer gran impacto en su identificación radica en su estrecha interacción con la proteína ATPasa p97, que como sabemos, interactúa en la membrana del ER y es integrante primordial de la maquinaria de retrotranslocación.³² Parece ser que esta nueva proteína atraviesa la membrana del ER, con un segmento corto luminal y un dominio largo citosólico de ~132 aminoácidos. Esta proteína ha sido llamada VIMP para vincularla a VCP (que es el otro nombre aceptado para la

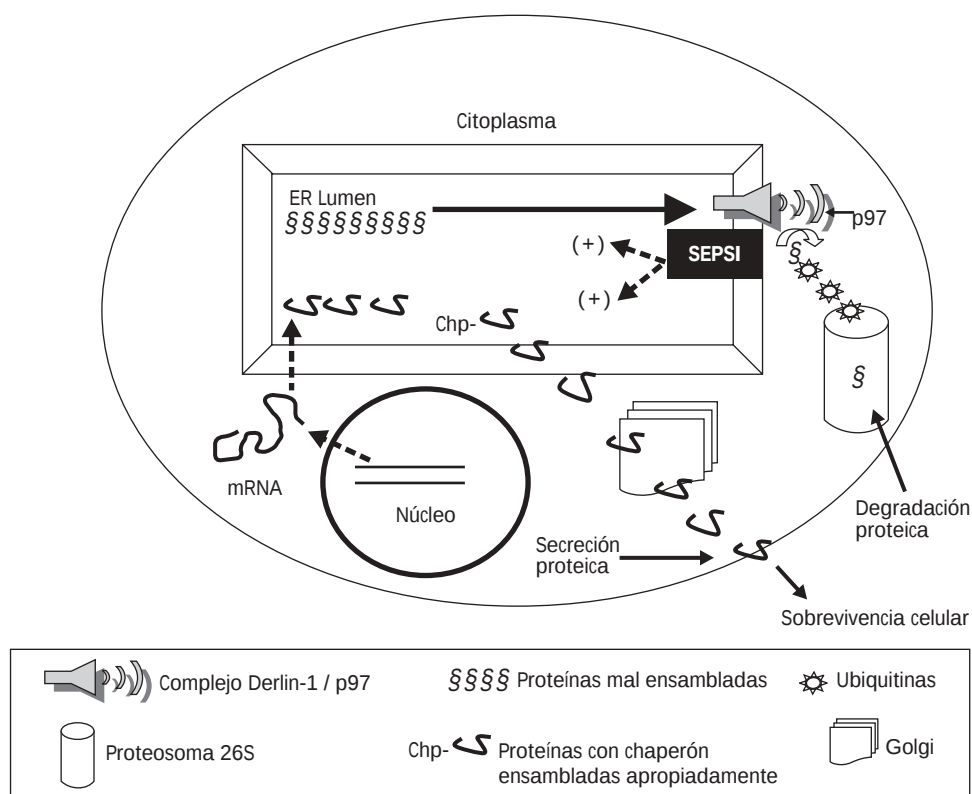


Figura 3. Mecanismo de retrotranslocación para síntesis proteica y degradación de proteínas mal ensambladas en el proteosoma citosólico.

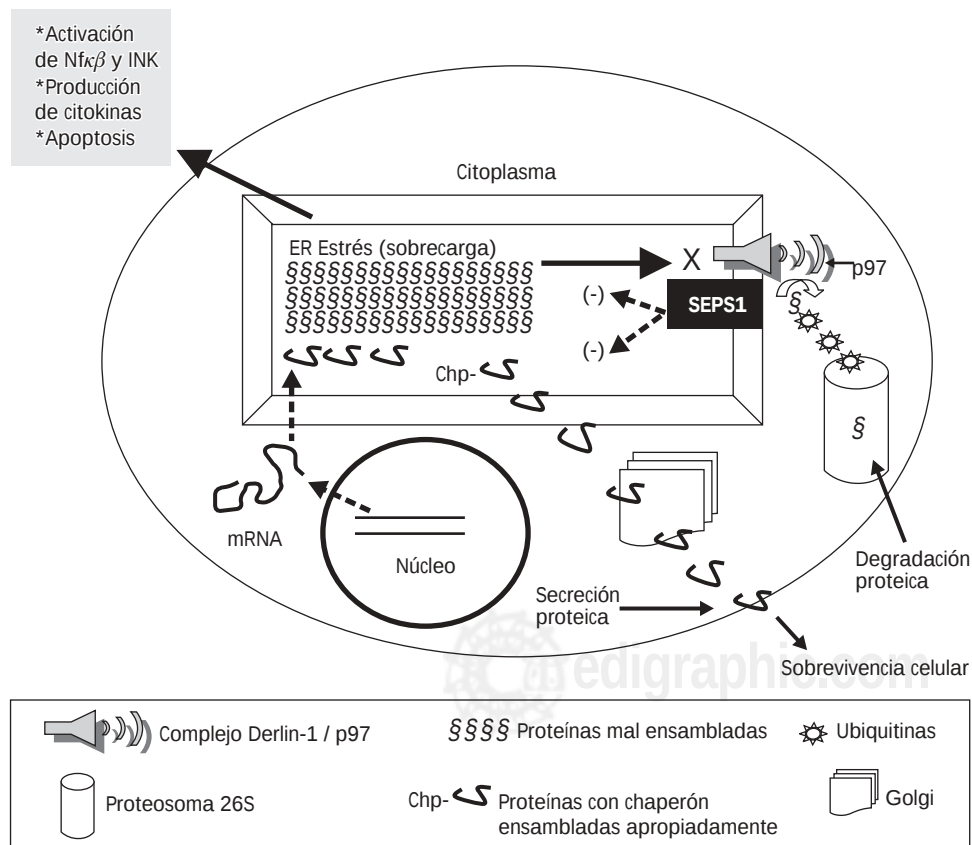


Figura 4. Incapacidad de SEPS-1 para eliminar proteínas mal ensambladas, provocando estrés (sobrecarga) del retículo endoplásmico (Eje molecular metabólico-inflamatorio SEPS1-JNK).

ATPasa p97) (banco de genes ID: AY618665). Por otro lado, se ha comprobado que el gen que codifica VIMP es exactamente el mismo gen que codifica SEPS1 o selenoproteína S.^{40,44} Es más apropiado referirse a este gen como SEPS1 ya que el producto proteínico codificado por este gen es la selenoproteína S. Las interacciones entre Derlin-1 y SEPS1 con la ATPasa p97 se han confirmado y dilucidado, sugiriendo que SEPS1 forma un complejo proteínico de membrana con Derlin-1 que sirve como receptor para la ATPasa p97.⁴⁰ La parte estructural más importante del complejo, desde el punto de vista funcional, es SEPS1 ya que también regula el balance celular redox y protege al ER de los efectos deletéreos del estrés oxidativo. Una alteración funcional de SEPS1 en la membrana del ER da como resultado la inducción de la expresión del factor de transcripción NF- κ B. Una vez activado el factor NF- κ B es transferido entonces al núcleo, donde activa transcripción de genes, incluyendo a los que codifican las citocinas proinflamatorias.⁴¹

Actualmente es posible establecer un panorama completo del mecanismo de retrotranslocación para eliminar proteínas mal ensambladas, desde el reconocimiento de dicho sustrato en el ER hasta su degradación por los proteosomas en el citosol (Figura 3). Primero, la proteína mal ensamblada es reconocida en el lumen del ER y dirigida hacia la membrana, específicamente hacia el punto donde se encuentra localizado Derlin-1, en el canal que forma el receptor para comunicar el lumen del ER con el citosol como parte del mecanismo de retrotranslocación. Como paso clave, el complejo citosólico de ATPasa p97 es reclutado para unirse a Derlin-1 por SEPS1. Las proteínas mal ensambladas salen entonces al citosol, donde son capturadas por el complejo p97 ATPasa. A estas proteínas defectuosas se les unen cadenas de poliubiquitina que son reconocidas por los dominios de p97 y sus cofactores proteicos Ufd1/Np14. Finalmente y ya fuera del ER, p97 hidroliza ATP para mover dentro del citosol al complejo con la proteína defectuosa, dirigiéndola a su degradación en el proteosoma.^{31,40}

ESTUDIOS GENÉTICOS DE SEPS1

Las selenoproteínas, tales como SEPS1, contienen el raro aminoácido selenocisteína (sec). Estas proteínas varían extensamente en su secuencia de aminoácidos, sin embargo, la región no traducida 3' de los genes de las selenoproteínas tiene una estructura común denominada circuito-ancla (stem loop), denominada secuencia de inserción de sec (SECIS), que es necesaria para el reconocimiento de UGA como un sec codón en vez de una señal de término (*stop signal*).³² Como se señaló previamente, el gen *tanis*/SEPS1 se expresa en células hepáticas de ratas *P. obesus* en ayuno comparadas con ratas en estado pos-

tpandrial. El análisis por Northern blot detectó la expresión de RNAm de SEPS1 en hígado, músculo-esquelético, tejido adiposo, hipotálamo, testículos, corazón y riñones. Mediante fragmentación celular e inmunohistoquímica, la proteína SEPS1 fue localizada en la membrana plasmática y los microsomas de *P. obesus* y en células hepáticas humanas.^{29,30}

Mediante investigación de bases de datos por el método SECIS utilizado para identificar posibles selenoproteínas, SEPS1 fue identificada en humanos.^{32,33} Es una proteína de 189 aminoácidos que contiene un sec en la posición 188, cerca de la C-terminal. El RNAm de SEPS1 fue detectado en una amplia variedad de tejidos y de células. Tanto el gen *tanis* de los *P. obesus* como el gen humano SEPS1 contienen 6 exones. El gen SEPS1 se localiza en el cromosoma 15q26.3. Esta región del cromosoma 15 ha sido ligada con QTLs (*quantitative trait loci*) que parecen influir en la susceptibilidad para cursar con enfermedades inflamatorias tales como diabetes mellitus tipo 1, enfermedad de Alzheimer y enfermedad celíaca. Lo anterior sugiere la importancia de SEPS1 a nivel poblacional.^{42,43}

GENÉTICA MOLECULAR DE SEPS1

Se ha podido evaluar la contribución de la variación genética de SEPS1, que ahora se sabe está involucrado en la respuesta a la sobrecarga (estrés) del ER e influye en el control de los procesos inflamatorios a nivel molecular. Después de resecuenciar SEPS1, 16 polimorfismos de nucleótido único (*single nucleotide polymorphisms* o SNPs por sus siglas en inglés) fueron genotipificados en 522 individuos de 92 familias caucásicas. Niveles plasmáticos de interleucina-6 (IL6), interleucina 1 beta (IL1 β) y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), fueron medidos como biomarcadores de inflamación. Mediante análisis modernos de genética estadística y cuantitativa poblacional denominados BQTN análisis (*Bayesian Quantitative Trait Nucleotide analysis* por sus siglas en inglés, cuyo objetivo es determinar estadísticamente la asociación más probable entre un fenotipo y una variante alélica funcional) se pudo identificar asociaciones entre polimorfismos de SEPS1 y las 3 citocinas proinflamatorias. Una variante del promotor, G-105A, mostró una fuerte evidencia de asociación con cada citocina. El polimorfismo G-105A arrojó una fuerte asociación con los 3 marcadores de inflamación medidos en la población estudiada ($p < 0.00047$ para IL-1 β , $p < 0.000013$ para IL-6 y $p < 0.000086$ para TNF- α), aun después de haber removido los efectos de la obesidad, sugiriéndose que estas observaciones son independientes del exceso de grasa corporal. En efecto, la corrección simultánea de algún probable efecto del índice de masa corporal (IMC)

sobre las citocinas plasmáticas, no cambiaron materialmente estos resultados, no encontrando ninguna evidencia de interacción entre los polimorfismos y el IMC. Para corroborar el significado de las asociaciones observadas, el G-105A fue genotipificado también en 419 México-Americanos en 23 familias. El análisis realizado en este grupo étnico, siguió cuidadosamente los pasos efectuados en las familias caucásicas, y confirmó una vez más una asociación significativa entre esta variante alélica con el TNF- α y la IL1 β .⁴⁴

El análisis funcional de los polimorfismos detectados por análisis estadístico a través del BQTN mostró que la variante A altera significativamente la expresión de SEPS1 después de la exposición a agentes químicos conocidos como desencadenantes de sobrecarga (estrés) en el ER como tunicamicina. La variante G-105A del promotor parece estar implicada en la funcionalidad alterada de un elemento estructural del gen (*cis-acting*) con una secuencia de bases específica CCAAT-N(9)-CCACG y que se denomina "elemento para la sobrecarga del retículo endoplásmico" (*ER stress response like element* o ERSE por sus siglas en inglés). La región promotora de SEPS1 contiene un ERSE confirmado. Los ERSEs son la parte del gen involucrada en detectar las proteínas potencialmente inductoras de estrés en el ER, asisten en el ensamblaje apropiado de las proteínas en el ER y promueven la supervivencia celular bajo condiciones adversas de estrés.⁴⁵

Otro elemento más de la importancia de SEPS1 en las funciones del ER con respecto a su capacidad de protegerlo de la sobrecarga (estrés) proteínica, es el hecho de haber podido documentar que la supresión de SEPS1 por medio de RNA de interferencia de cadenas cortas en macrófagos, incrementa la liberación de IL6 y TNF- α . Estos resultados sugieren un vínculo muy sólido entre SEPS1 y la producción de citocinas inflamatorias, siendo altamente indicativo el papel que desempeña SEPS1 como mediador de la respuesta inflamatoria.⁴⁴

CONCLUSIONES

SEPS1 (tradicionalmente conocido como *tanis*), fue inicialmente identificado en el tejido hepático de *P. obesus* diabéticos. Se pudo también documentar que su expresión se encontraba alterada en *P. obesus* intolerantes a la glucosa y diabéticos.²⁹ Estos resultados fueron confirmados subsecuentemente en tejido adiposo humano de diabéticos y sujetos normales (sin diabetes) en estudios que utilizaron una estimulación de insulina *in vivo*.³³ SEPS1 fue recientemente identificado como una selenoproteína de la membrana del ER de mamíferos y también como un miembro de la familia de los receptores de proteína G (GRP). Las selenoproteínas son responsables de mediar las acciones del selenio, un elemento traza antioxidante,

esencial para múltiples funciones metabólicas en los mamíferos que incluyen la función inmune.³²

En primera instancia, se secuenciaron 9.3 Kb en el gen SEPS1 incluyendo posibles promotores, exones, intrones y regiones conservadas en 50 individuos de tres diferentes etnias identificándose 11 variantes alélicas (SNPs) en el grupo de caucásicos. Se seleccionaron otras cinco variantes obtenidas de la biblioteca pública de datos y que no se encontraban en la región secuenciada. Estas 16 variantes alélicas fueron posteriormente genotipificadas en una cohorte de 552 individuos caucásicos de 92 familias, usando espectrometría de masa Maldi-TOF. Además, los niveles plasmáticos de IL-1 β , IL6 y el TNF- α fueron medidos en todos los participantes.⁴⁴ Estas mediciones fueron analizadas estadísticamente para determinar asociaciones, correlaciones genéticas y heredabilidad utilizando componente de la varianza.⁴⁶ Las tres citocinas tuvieron una heredabilidad significativa: 0.49 ± 0.08 ($p < 8.3 \times 10^{-11}$ para IL1; 0.37 ± 0.08 ($p < 6.4 \times 10^{-7}$ para IL6; y 0.44 ± 0.08 ($p < 1.0 \times 10^{-8}$ para TNF- α). Estos resultados indicaron que los niveles plasmáticos de estas citocinas inflamatorias tienen un componente genético sustancial e importante.⁴⁴ También se observaron correlaciones genéticas importantes: 0.89 ± 0.036 entre IL-1 β e IL-6; 0.96 ± 0.016 entre IL-1 β y TNF- α ; y 0.88 ± 0.039 entre IL-6 y TNF- α . Estas correlaciones genéticas altamente significativas sugieren la presencia de un gen o grupos de genes que ejercen influencia sobre estos biomarcadores proinflamatorios.⁴⁴

El análisis marginal reveló asociaciones con 3 SNPs (G-105A, G-3705A y C-5227T) y al menos un fenotipo de inflamación, después de ajustar para pruebas estadísticas múltiples. Solamente el polimorfismo G-105A mostró una fuerte asociación significativa con los 3 fenotipos inflamatorios: IL-1 β ($p < 0.000016$), IL6 ($p < 0.0005$), y TNF- α ($p < 0.00089$). El alelo A se asoció con una alta concentración de citocinas circulantes.⁴⁴ El análisis bayesiano cuantitativo indicó que el SNP G-105A tiene consecuencias funcionales directas (o está fuertemente correlacionado a una variante funcional).⁴⁷⁻⁴⁹

Estudios funcionales demostraron que cuando la expresión de SEPS1 fue suprimida en células de macrófagos por siRNA, aumentaba la producción de citocinas. Luego de 24 horas del tratamiento con siRNA, SEPS1 fue suprimido en aproximadamente 60%, tanto al nivel del mRNA como a nivel de la expresión de proteína, observándose un incremento en los niveles de IL6 y TNF- α . Los resultados demostraron claramente que una expresión inadecuada de SEPS1 se asocia directamente con un aumento en la producción y secreción de citocinas a nivel celular.⁵⁰

Investigaciones recientes sobre el papel de SEPS1 en modular la sobrecarga (estrés) del ER, sugieren la posibilidad que este gen desempeñe un papel directo en me-

diar los procesos inflamatorios. Bajo condiciones de sobrecarga (estrés) del ER, tales como la acumulación de proteínas mal ensambladas, un aumento en la expresión del producto proteínico codificado por SEPS1 es vital para mantener una homeostasis del lumen en condiciones apropiadas para efectuar un ensamblaje proteico efectivo y realizar modificaciones postraduccionales. Como hemos indicado antes, la UPR es una respuesta adaptativa celular mediada por tres moléculas: Ire1, ATF6 y PERK/PEK. Todas estas proteínas están localizadas en la membrana del ER y son capaces de detectar una agregación y acumulación proteica inadecuada, situación que desencadena la activación de la respuesta UPR. La acción coordinada de ATF6 e IRE1 constituye una primera línea de defensa al desencadenar un sistema eficiente de estimulación de la expresión de XBP1^{23,24} (Figura 2). La segunda línea de defensa detiene la síntesis de proteínas y alivia al ER de sobrecarga de proteínas. Es mediada por la cinasa PERK/PEK. Durante la sobrecarga del ER, PERK/PEK fosforila la subunidad alfa del eIF2 α , de tal modo que bloquea el

inicio de la traducción de proteínas y atenúa la síntesis^{23,24} (Figura 2).

Algunos polimorfismos del promotor modulan el gen SEPS-1. El alelo G105A del promotor SEPS-1 es más sensible a la sobrecarga del ER y proporciona una fuerte evidencia de que el G-105A juega un papel crítico en la expresión de SEPS1 y en la modulación de la sobrecarga (estrés) del ER.⁴⁴ Estos hechos podrían ser considerados perfectamente como la tercer y principal línea de defensa para aliviar la sobrecarga (estrés) del ER, que postula cómo SEPS1 recluta al complejo ATPasa y lo dirige hacia Derlin-1 junto con las proteínas mal ensambladas, para así sacarlas al citosol, fuera del ER, para su degradación proteosomal (Figura 3). Si este mecanismo falla o no es efectivo, el congestionamiento de proteínas mal ensambladas desencadena acciones intracitosólicas que culminan en la activación de las potentes vías moleculares proinflamatorias (Figura 4). Por esto, el ER podría ser el sitio clave donde las señales metabólicas son procesadas, integradas y transmitidas en forma de señales de sobrecar-

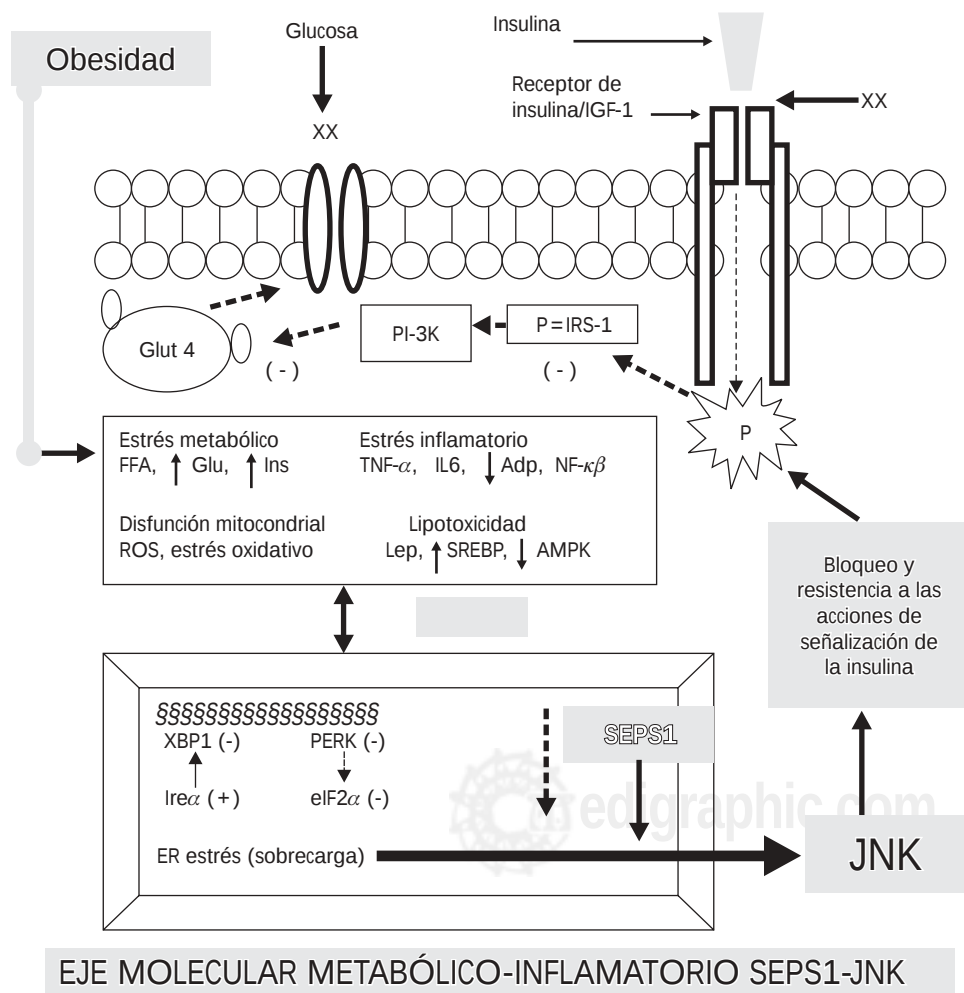


Figura 5. Obesidad como causa de estrés (sobrecarga) del retículo endoplásmico.

ga (estrés), incluyendo la activación de JNK, IKK, PKC- θ y posiblemente otras vías.²⁵ Este modelo ofrece una nueva e interesante idea: las vías inflamatorias podrían ser activadas por señales metabólicas inapropiadas que se originan desde el interior de las células, y se propagan a través de señales moleculares extracelulares o mediadores inflamatorios²⁵ (Figura 5).

La activación de la potente vía proinflamatoria de la JNK inducida por la obesidad parece estar controlada, al menos en una muy buena parte, por este mecanismo. De esta manera, el retículo endoplásmico, a través de la modulación de SEPS1, nos ofrece un modelo que involucra las vías moleculares y genómicas metabólicas e inflamatorias que parecen contribuir al desarrollo de la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2. Este hecho bien podría establecer la existencia de un eje molecular metabólico-inflamatorio SEPS1-JNK como el mecanismo clave en este modelo. Se debe tener presente que la sobrecarga (estrés) del ER también estimula la actividad de la vía del NF- κ B,⁴¹ la cual podría representar un vínculo agregado y novedoso entre las vías regulatorias para JNK e IKK, integrando entonces las dos más importantes cascadas de señalización molecular proinflamatoria con la re-

sistencia a la insulina, la expresión genética de SEPS1 y las citocinas inflamatorias TNF- α , IL-6 y IL1 β (Figura 5).

La obesidad puede dar lugar a sobrecarga (estrés) del ER a través de un incremento en la síntesis de proteínas y lípidos, acumulación de estos últimos, alteraciones en los nutrimentos intracelulares y flujos de energía, y cambios severos en la arquitectura tisular (Figura 5). La arquitectura del tejido adiposo es de particular relevancia debido a que sufre cambios extremos debido a la expansión de los adipocitos y del tejido adiposo en general.²⁵ La dislipidemia y la aterosclerosis son también de interés particular desde que se demostró que una acumulación excesiva de colesterol en los macrófagos modifica las propiedades de la membrana del ER y da lugar a una respuesta de apoptosis mediada por la sobrecarga (estrés) del ER.⁵¹ La contribución potencial de otras señales lipídicas para desencadenar la sobrecarga (estrés) del ER en la obesidad, podría abrir nuevas posibilidades en la comprensión y prevención de la lipotoxicidad en una gran variedad de tejidos no adiposos metabólicamente activos.^{25,50}

Los pasos tempranos en la biosíntesis de la insulina ocurren en el ER y las células beta tienen un ER altamente desarrollado y activo. El nivel de sobrecarga (estrés) del ER en las células beta podría estar incrementado en estados fisiológicos hipersecretorios, como la resistencia a la insulina.²⁶ En individuos a quienes se les documenta rigurosamente un estado de resistencia a la insulina, la intolerancia a los carbohidratos solamente se desarrolla después de que el páncreas endocrino falla en compensar con la demanda incrementada de insulina.²⁶ Por lo tanto es razonable preguntar, si la prolongada sobrecarga (estrés) a la que se somete el ER podría contribuir a la degradación de la función de la célula beta, que precede a la descompensación metabólica en el paciente con resistencia a la insulina y si la variación genética en la actividad de las vías de señalización tales como SEPS1, que contrarrestan la sobrecarga del ER, podrían modular el fenotipo diabético. Debemos subrayar que estos hallazgos sugieren que niveles fisiológicos de sobrecarga (estrés) en el ER, actuando a través de las vías de señalización dependientes de la expresión genética y la variación en SEPS1, ejercen el control y la regulación del aparato secretor en las células clave para mantener una homeostasis apropiada en los niveles de glucosa. Esta hipótesis sugiere que una señalización defectuosa de esta vía antiinflamatoria metabólica podría afectar células secretoras profesionales como las células beta. La secuencia metodológica para descubrir las variantes alélicas de SEPS1 y su localización cromosómica, han venido a inyectar un nuevo estímulo para considerar nuevos modelos en la comprensión de las bases moleculares y genómicas, así como la patogénesis de la obesidad y la diabetes tipo 2²⁶ (Figura 6).

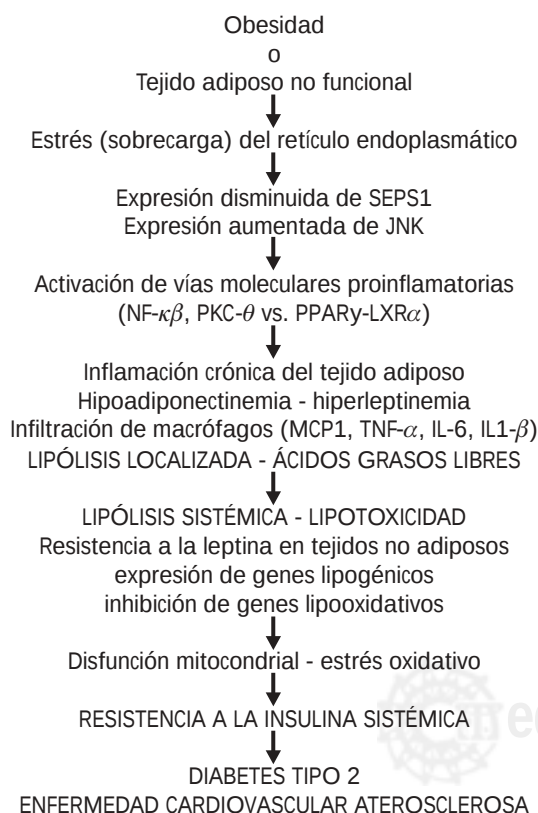


Figura 6. Nuevos modelos en la comprensión de las bases moleculares y genómicas así como la patogénesis de la obesidad y la diabetes tipo 2.

Es pertinente finalizar recalcando que el descubrimiento del gen SEPS1 tanto a través de estudios de expresión diferencial del mRNA en modelos animales poligénicos como a través de bases de datos poblacionales en caucásicos y México-Americanos con metodología estadística cuantitativa poblacional utilizando barridos genómicos y técnicas de avanzada (como serían los análisis BQTN) para la búsqueda de genes a través de DNA, abre un horizonte muy halagador para la futura prevención biológica a nivel poblacional de estas enfermedades comunes, complejas, altamente prevalentes que generan las primeras causas de muerte en nuestro país y en el mundo, como son la diabetes tipo 2 y la obesidad. Dicho enfoque dirigido a las bases biológicas y genéticas de estas enfermedades definitivamente vendrá a complementar las estrategias de salud pública que intentan modificar nuestro medio ambiente obesogénico actual, estrategia que al parecer va perdiendo la batalla.^{52,53}

BIBLIOGRAFÍA

- Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 2005; 115: 1111-1119.
- Tataranni PA, Ortega E. A burning question: does an adipokine-induced activation of the immune system mediate the effect of overnutrition on type 2 diabetes? *Diabetes* 2005; 54: 917-927.
- Saghizadeh M, Ong JM, Garvey WT, Henry RR, Kern PA. The expression of TNF alpha by human muscle: relation ship to insulin resistance. *J Clin Invest* 1996; 97: 1111-1116.
- Maachi M, Pieroni L, Bruckert E, Jardel C, Fellahi S, Hainque B, Capeau J, Bastard JP. Systemic low-grade inflammation is related to both circulating and adipose tissue TNF alpha, leptin and IL-6 levels in obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28(8): 993-997.
- Dandona PA, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004; 25: 4-7.
- Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001; 286: 327-334.
- Sattar N, McCarey DW, Capell H, McInnes IB. Explaining how "high-grade" systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003; 108: 2957-2963.
- Bahtiyar G, Shin JJ, Aytaman A, Sowers JR, McFarlane SI. Association of diabetes and hepatitis C infection: epidemiologic evidence and pathophysiologic insights. *Curr Diabetes Rep* 2004; 4: 194-198.
- 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.
- Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 2003; 112: 1821-1830.
- Cousin B, Munoz O, Andre M, Fontanilles AM, Dani C, Cousin JL, Laharrague P, Casteilla L, Penicaud L. A role for preadipocytes as macrophage-like cells. *FASEB J* 1999; 13: 305-312.
- Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; 414: 799-806.
- Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D, Spiegelman BM. Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor- α . *J Clin Invest* 1994; 94: 1543-1549.
- Paz K, Hemi R, LeRoith D, Karasik A, Elhanany E, Kanety H, Zick Y. A molecular basis for insulin resistance: elevated serine/threonine phosphorylation of IRS-1 and IRS-2 inhibits their binding to the juxtamembrane region of the insulin receptor and impairs their ability to undergo insulin-induced tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem* 1997; 272: 29911-29918.
- Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature* 2002; 420: 333-336.
- Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and I κ B α . *Diabetes* 2002; 51(7): 2005-2011.
- 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-S11.
- Shoelson SE, Lee J, Yuan M. Inflammation and the IKK beta/I κ B/NF-kappa B axis in obesity- and diet-induced insulin resistance. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27(Suppl. 3): S49-S52.
- Yin MJ, Yamamoto Y, Gaynor RB. The anti-inflammatory agents aspirin and salicylate inhibit the activity of I κ B kinase-beta. *Nature* 1998; 396: 77-80.
- Gao Z, Zuberi A, Quon MJ, Dong Z, Ye J. Aspirin inhibits serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 in tumor necrosis factor-treated cells through targeting multiple serine kinases. *J Biol Chem* 2003; 278: 24944-24950.
- Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, Shoelson SE. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med* 2005; 11: 183-190.
- Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, Maeda S, Li ZW, Long JM, Wynshaw-Boris A, Poli G, Olefsky J, Karin M. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med* 2005; 11: 191-198.
- Kaufman RJ, Scheuner D, Schroder M, Shen X, Lee K, Liu CY, Arnold SM. The unfolded protein response in nutrient sensing and differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 411-421.
- Harding HP, Calton M, Urano F, Novoa I, Ron D. Transcriptional and translational control in the mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2002; 18: 575-599.
- Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdelen E, Tuncman G, Gorgun C, Glimcher LH, Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* 2004; 306: 457-461.

26. Harding HP, Ron D. Endoplasmic reticulum stress and the development of diabetes: a review. *Diabetes* 2002; 51(Suppl. 3): S455-S461.
27. Shi Y, Taylor SI, Tan SL, Sonenberg N. When translation meets metabolism: multiple links to diabetes. *Endocr Rev* 2003; 24: 91-101.
28. Nakatani Y, Kaneto H, Kawamori D, Yoshiuchi K, Hatazaki M, Matsuoka TA, Ozawa K, Ogawa S, Hori M, Yamasaki Y, Matsuhisa M. Involvement of endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes. *J Biol Chem* 2005; 280: 847-851.
29. Walder KR, Fahey RP, Morton GJ, Zimmet PZ, Collier GR. Characterization of obesity phenotypes in *Psammomys obesus* (Israeli sand rats). *Int J Exp Diabetes Res* 2000b; 1: 177-184.
30. Gao Y, Walder K, Sunderland T, Kantham L, Feng HC, Quick M, Bishara N, de Silva A, Augert G, Tenne-Brown J, Collier GR. Elevation in *tanis* expression alters glucose metabolism and insulin sensitivity in H4IIE cells. *Diabetes* 2003; 52: 929-934.
31. Lilley BN, Ploegh HL. A membrane protein required for dislocation of misfolded proteins from the ER. *Nature* 2004; 24; 429(6994): 834-840.
32. Kryukov GV et al. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science* 2003; 300: 1439-1443.
33. Karlsson HK, Tsuchida H, Lake S, Koistinen HA, Krook A. Relationship between serum amyloid A level and *Tanis/SeIS* mRNA expression in skeletal muscle and adipose tissue from healthy and type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 2004; 53: 1424-1428.
34. Aridor M, Balch WE. Integration of endoplasmic reticulum signaling in health and disease. *Nature Med* 1999; 5: 745-751.
35. Meyer HH, Shorter JG, Seemann J, Pappin D, Warren G. A complex of mammalian Ufd1 and Np14 links the AAA-ATPase, p97, to ubiquitin and nuclear transport pathways. *EMBO J* 2000; 19: 2181-2192.
36. Ye Y, Meyer HH, Rapoport TA. Function of the p97-Ufd1-Np14 complex in retrotranslocation from the ER to the cytosol: dual recognition of nonubiquitinated polypeptide segments and polyubiquitin chains. *J Cell Biol* 2003; 162: 71-84.
37. Langer T. AAA proteases: cellular machines for degrading membrane proteins. *Trends Biochem Sci* 2000; 25: 247-251.
38. Knop M, Finger A, Braun T, Hellmuth K, Wolf DH. Der1, a novel protein specifically required for endoplasmic reticulum degradation in yeast. *EMBO J* 1996; 15: 753-763.
39. Hitt R, Der Wolf DH. 1p, a protein required for degradation of malformed soluble proteins of the endoplasmic reticulum: topology and Der1-like proteins. *FEMS Yeast Res* 2004; 4: 721-729.
40. Ye Y, Shibata Y, Yun C, Ron D, Rapoport TA. A membrane protein complex mediates retro-translocation from the ER lumen into the cytosol. *Nature* 2004; 429: 841-847.
41. Pahl HL, Baeuerle PA. The ER-overload response: activation of NF-kappa B. *Trends Biochem Sci* 1997; 22: 63-67.
42. Field LL, Tobias R, Magnus T. A locus on chromosome 15q26 (IDDM3) produces susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *Nat Genet* 1994; 8: 189-194.
43. Blacker D et al. Results of a high-resolution genome screen of 437 Alzheimer's disease families. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 23-32.
44. Curran JE, Jowett JB, Elliott KS, Gao Y, Gluschenko K, Wang J et al. Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. *Nat Genet* 2005; 37: 1234-1241.
45. 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: 22363-22372.
46. Almasy L, Blangero J. Multipoint quantitative-trait linkage analysis in general pedigrees. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1198-1211.
47. Blangero J et al. Quantitative trait nucleotide analysis using Bayesian model selection. *Hum Biol* (in the press).
48. Phillips PC. From complex traits to complex alleles. *Trends Genet* 1999; 15: 6-8.
49. Long AD, Lyman RF, Langley CH, Mackay TE. Two sites in the Delta gene region contribute to naturally occurring variation in bristle number *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 1998; 149: 999-1017.
50. Gao Y, Hannan NR, Wanyonyi S, Konstantopoulos N, Pagnon J, Feng HC, Jowett JB, Kim KH, Walder K, Collier GR. Activation of the selenoprotein SEPS1 gene expression by pro-inflammatory cytokines in HepG2 cells. *Cytokine* 2006; 33(5): 246-251.
51. Feng B, Yao PM, Li Y, Devlin CM, Zhang D, Harding HP, Sweeney M, Rong JX, Kuriakose G, Fisher EA, Marks AR, Ron D, Tabas I. The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. *Nat Cell Biol* 2003; 5: 781-792.
52. Sanchez-Castillo CP, Velasquez-Monroy O, Lara-Esqueda A, Berber A, Sepulveda J, Tapia-Conyer R, James WP. Diabetes and hypertension increases in a society with abdominal obesity: results of the Mexican National Health Survey 2000. *Public Health Nutr* 2005; 8(1): 53-60.
53. Sanchez-Castillo CP, Velasquez-Monroy O, Berber A, Lara-Esqueda A, Tapia-Conyer R, James WP; Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000 Working Group. Anthropometric cut-off points for predicting diabetes type 2 and hypertension in the Mexican National Health Survey 2000. *Obes Res* 2003; 11: 442-451.