

# Lipotoxicidad, obesidad y enfermedades metabólicas

Sergio Rodríguez Cuenca, Antonio Vidal Puig

Wellcome Trust-MRC Institute of Metabolic Science, University of Cambridge (UK)

La cruda realidad evidencia que la sociedad es cada vez más obesa y que los tratamientos farmacológicos y conductuales para revertir o prevenir la obesidad han fracasado. Tan solo la cirugía bariátrica, una aproximación terapéutica quirúrgica mutilante, ha conseguido revertir la obesidad y sus complicaciones metabólicas. Ante este panorama desolador y hasta que se consiga controlar la epidemia de obesidad, el principal reto es prevenir sus complicaciones metabólicas, tales como la diabetes, la enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD) o las complicaciones cardiovasculares, que son las que al final ponen en riesgo la vida del paciente obeso. Pero para poder prevenir las complicaciones de la obesidad es fundamental entender el mecanismo patogénico por el cual la expansión del tejido adiposo se asocia a estas patologías.

## LIPOTOXICIDAD: UN CONCEPTO CUANTITATIVO Y CUALITATIVO

El concepto de lipotoxicidad, definido como la acumulación ectópica de lípidos en órganos periféricos no adiposos (hígado, músculo esquelético, corazón, páncreas, o incluso cerebro) es un factor determinante de estrés metabólico y provee una estructura conceptual para integrar las patologías que conforman el síndrome metabólico asociado a la obesidad. La lipotoxicidad puede operar a varios niveles, afectando tanto a la función de células como de tejidos y órganos, a través de la acumulación de un repertorio alterado de especies lipídicas causantes de “toxicidad”. Es importante destacar que a concentraciones fisiológicas, la mayoría de estas especies de lípidos ejercen funciones vitales a nivel estructural, de señalización o como sustratos bioenergéticos que >>>

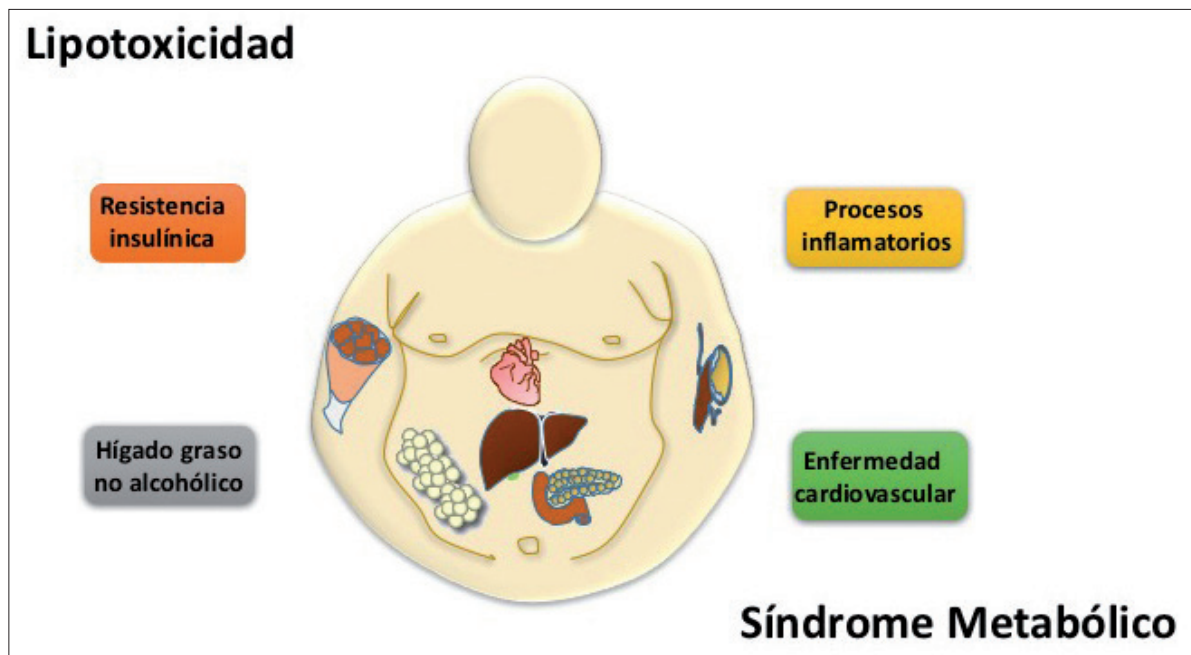


Figura 1

Comorbilidades asociadas a lipotoxicidad en el paciente obeso

>>> contribuyen a la homeostasis celular. Sin embargo, las especies lipídicas derivadas de la acción directa de agentes químicos como las especies reactivas del oxígeno (ROS) o especies reactivas de nitrógeno (RNS) generan derivados lipídicos tóxicos.

Por lo tanto, los lípidos sólo se convierten en “tóxicos” cuando **a)** se acumulan en cantidades excesivas como resultado de la biosíntesis exacerbada o como consecuencia de la ineficiencia o colapso de mecanismos de oxidación de lípidos u otras vías de metabolización; **b)** se incrementa de forma anómala o descontrolada la metabolización de determinadas especies lipídicas a intermediarios que, aunque son “fisiológicos”, a concentraciones elevadas son excesivamente activos biológicamente (prostaglandinas, ceramidas, diacilgliceroles, etcétera) y **c)** cuando su localización espacio-temporal en la célula es anormal (estar en el lugar equivocado en el momento equivocado). Las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad pueden comportar en distinto grado lipotoxicidad a través de esos mecanismos.

En la actualidad existen tres herramientas fundamentales que están permitiendo una mejor comprensión

**EXISTE EVIDENCIA, en modelos experimentales que demuestran una asociación directa entre disminución de oxidación de ácidos grasos y resistencia insulínica. Esto es importante en el contexto de obesidad, donde la mitocondria experimenta una sobrecarga de lípidos y la capacidad de oxidación de ácidos grasos se encuentra comprometida.**

acerca de la contribución de las especies lipotóxicas en diversas patologías. Estas herramientas son: a) el uso de modelos animales transgénicos que permiten incrementar o disminuir de forma selectiva la concentración de formas lipídicas concretas en órganos específicos y en tiempos precisos para analizar el impacto de estos cambios en la salud y en enfermedad. b) el desarrollo de nuevas plataformas de lipidómica que permiten la detección e identificación de nuevas especies lipídicas, así como su monitorización durante la aparición y desarrollo de la enfermedad y c) el uso de herramientas bioinformáticas para la integración, análisis y modelización de los cambios no sólo de ciertas especies sino también de los cambios que tienen lugar a nivel global en la composición de los lípidos.

A continuación, detallamos algunos ejemplos clásicos y menos clásicos de “lipotoxicidad” incluyendo nuevas especies lipídicas que a pesar de conocerse desde hace

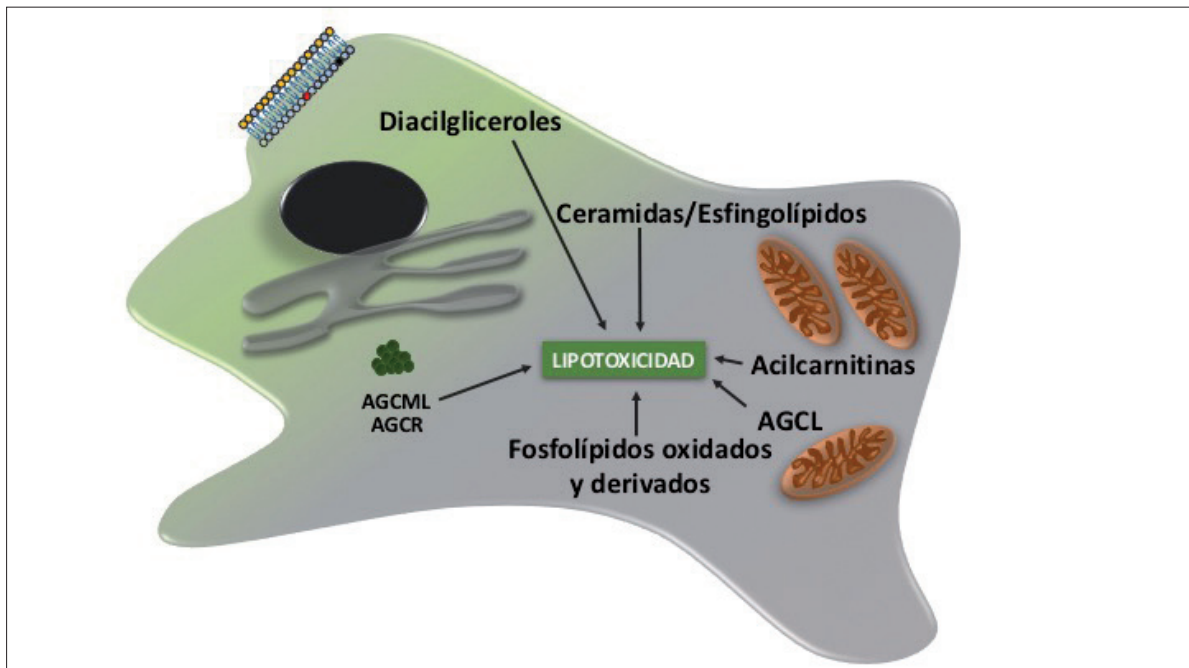
años, tan solo ahora empiezan a considerarse relevantes al asociarse a diferentes alteraciones metabólicas.

## FORMACIÓN DE ESPECIES LIPÍDICAS TÓXICAS

Acumulación lipídica como consecuencia de la deficiencia en la oxidación peroxisomal de ácidos grasos. Quizás uno de los ejemplos mejor caracterizados en relación a efectos lipotóxicos como consecuencia directa de la acumulación de lípidos debido a una alteración enzimática, lo constituye las enfermedades peroxisomales. Los peroxisomas juegan un papel crucial en la oxidación de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA, siglas en inglés) y de ácidos grasos ramificados. Cuando las enzimas implicadas en la oxidación y en el transporte de estos ácidos grasos, o incluso cuando la importación de estas proteínas dentro de la matriz del peroxisoma fracasan, se produce la acumulación de estos lípidos, que actúan agentes causales de una patología peroxisomal muy severa y específica.

Los defectos en la oxidación mitocondrial de ácidos grasos causan la acumulación de ácidos grasos y acilcarnitinas como consecuencia de la deficiencia de la actividad de proteínas mitocondriales de transporte, activación u oxidación de ácidos grasos. La acumulación excesiva de lípidos debido a defectos en su oxidación juega un papel muy importante en la clínica y patogénesis de enfermedades de amplio espectro metabólico. A este respecto, existe evidencia en modelos experimentales que demuestran una asociación directa entre disminución de oxidación de ácidos grasos y resistencia insulínica. Esto es importante en el contexto de obesidad, donde la mitocondria experimenta una sobrecarga de lípidos y la capacidad de oxidación de ácidos grasos se encuentra comprometida.

Acumulación de esfingolípidos. Un ejemplo clásico de especie lipídica lipotóxica es la acumulación de esfingolípidos, y en particular de ceramidas. Es importante destacar que la biosíntesis de ceramidas implica al menos tres vías diferentes pero íntimamente interconectadas. Estas vías están compartimentalizadas dentro de la célula, lo que conlleva la formación de depósitos de ceramidas y otros esfingolípidos intermediarios en zonas celulares específicas. Existen numerosas evidencias que demuestran la asociación entre incremento en los depósitos de ceramidas y la aparición y desarrollo de enfermedades metabólicas como obesidad, resistencia a insulina y diabetes, tanto en pacientes como en modelos experimentales. Además el tratamiento farmacológico dirigido a disminuir la biosíntesis *de novo* de ceramidas, es capaz de revertir sus efectos lipotóxicos.



**Figura 2**

Principales especies lipídicas causantes de lipotoxicidad. AGCML, ácidos grasos de cadena muy larga, AGCR, ácidos grasos ramificados, AGCL, ácidos grasos cadena larga.

Es importante destacar que la *localización* intracelular de los esfingolípidos determina en gran medida su función, regulando la señalización intracelular y/o modulando la respuesta a estímulos extracelulares. Por lo tanto, el espectro de los efectos patológicos de los esfingolípidos depende no solo del repertorio bioquímico de esfingolípidos (esfingomielinas, ceramidas, dihidroceramidas, ceramida-1-fosfato, esfingosina, esfingosina-1-fosfato, así como otros esfingolípidos complejos), sino también de su localización intracelular y de sus concentraciones relativas.

Todas estas evidencias han dado lugar a un concepto nuevo, la existencia de un “reóstato de esfingolípidos” capaz de controlar la regulación y biosíntesis de esfingolípidos y conectar sus diversas vías de biosíntesis y degradación. Además de estar involucrado en la patogénesis de diversas enfermedades cardiovasculares, el “reóstato de esfingolípidos” también podría influir en otras patologías de origen metabólico, por lo que su estudio podría ofrecer nuevas oportunidades terapéuticas.

A nivel molecular, uno de los mecanismos más lipotóxicos de las ceramidas y mejor estudiados es su efecto adverso en la vía de señalización de la insulina, donde las ceramidas impiden la unión entre PI(3,4,5)P y el dominio homólogo a *plektrina* (PH) de la AKT, a la vez

que intervienen en la activación de diversas fosfatasa que contribuyen a la inactivación de la vía. Además, las ceramidas ejercen un efecto tóxico a nivel mitocondrial. A bajas concentraciones, las ceramidas ejercen un efecto fisiológico, contribuyendo a la funcionalidad mitocondrial. Sin embargo, su acumulación excesiva determina: la inhibición del transporte de electrones en la mitocondria, la formación de canales en la membrana mitocondrial externa, permitiendo la liberación de citocromo c y la activación de apoptosis; el acortamiento de telómeros, estrés de retículo; y produce alteraciones en las propiedades fisicoquímicas de las membranas celulares, incidiendo negativamente en procesos de transporte de solutos y señalización determinando la muerte celular.

Es interesante destacar los recientes trabajos enfocados a la identificación de nuevos motivos de unión a esfingolípidos en proteínas de membrana mediante el desarrollo de algoritmos de búsqueda, así como los estudios recientes en levaduras en los que se identifica cómo ciertos esfingolípidos pueden coadyuvar, pero también competir, en la activación de dominios PH presentes en numerosas proteínas con sus respectivos ligandos naturales. *A priori*, estos estudios permiten ampliar el espectro de acción de los esfingolípidos e hipotetizar que en situaciones patológicas con un alto contenido en esfingolípidos, estas especies lipídicas puede >>>

»»» desplazar y/o prevenir la unión de lípidos a proteínas, desencadenando alteraciones en la regulación y/o translocación de estas proteínas.

Aunque menos estudiado, también es conocido que las ceramidas y otros esfingolípidos pueden alterar directamente los niveles de glicerofosfolípidos a través de diversos mecanismos: a) interfiriendo con su biosíntesis o b) alterando la actividad de las fosfolipasas A2, C y D, lo que condiciona los niveles de glicerofosfolípidos y de sus intermediarios/derivados biológicos (ácidos grasos, lipofosfolípidos, diacilgliceroles) contribuyendo a su efecto lipotóxico.

Hasta la fecha, la lipotoxicidad asociada a la acumulación de esfingolípidos se supone consecuencia de las alteraciones metabólicas primarias que determinan, actuando como efectores/iniciadores de patología cuando aumentan los niveles de esfingolípidos y/o se asocian a una localización celular “aberrante”. Uno de los ejemplos más estudiados es la acumulación de ceramidas en músculo, hígado e incluso hipotálamo en pacientes obesos o en

### DIVERSOS ESTUDIOS RECIENTES

han demostrado la existencia de altos niveles de 1-deoxiesfingolípidos en pacientes con neuropatías, pero también en pacientes y/o en modelos animales de obesidad y de diabetes. Una posible explicación es la deficiencia en L-serina o una mayor utilización de alanina.

modelos roedores de obesidad, donde este incremento en los niveles de ceramidas se asocian con mayores niveles de inflamación. En los últimos años, diversos estudios sugieren que algunas alteraciones en los niveles de esfingolípidos pueden tener una base genética, tal y como sugieren estudios genéticos GWAS que han demostrado la existencia de mutaciones puntuales en genes relacionados con la biosíntesis de esfingolípidos asociados de forma directa a alteraciones metabólicas. Un buen ejemplo de ello es la asociación de polimorfismos en el gen *degs2* con un mayor riesgo de infarto de miocardio, o una rara mutación puntual en el gen *degs1* asociado con bajos niveles de ésteres de colesterol y un menor índice cintura/cadera en una población de origen mejicano.

### LA IMPORTANCIA DE LOS CAMBIOS CUALITATIVOS LIPÍDICOS

1-deoxiesfingolípidos. Uno de los ejemplos que ilustran la importancia de los cambios cualitativos lipídicos como agentes de toxicidad son las 1-deoxi-esfingolípidos. Estos lípidos se originan cuando el enzima SPT (serina

palmitoil transferasa) sustituye la molécula de L-serina (que condensa con palmitato) por L-alanina o glicina. La utilización de esos aminoácidos se favorece cuando a) existen ciertas mutaciones puntuales en la *spt1* o b) en condiciones donde la síntesis de L-serina se encuentra disminuida y/o la biosíntesis de alanina y glicina favorecida. Diversos estudios recientes han demostrado la existencia de altos niveles de 1-deoxiesfingolípidos en pacientes con neuropatías, pero también en pacientes y/o en modelos animales de obesidad y de diabetes. Una posible explicación que se baraja en estos casos es la deficiencia en L-serina o una mayor utilización de alanina. Es interesante que en modelos animales de neuropatías, así como modelos de diabetes inducidos por streptozotocina, la administración de L-serina revierte o reduce los niveles de 1-deoxi-esfingolípidos, sugiriendo nuevas aproximaciones farmacológicas para estas patologías.

2. Los diacilgliceroles, “los sospechosos habituales”. Otra de las especies lipotóxicas más estudiadas son los diacilgliceroles (DAG). A pesar de que existen evidencias que sugieren un papel clave de los DAG en la patogénesis de resistencia insulínica en pacientes obesos y diabéticos tipo 2, todavía existe una marcada controversia en relación a esta asociación. De hecho, a concentraciones fisiológicas los DAG actúan como segundos mensajeros regulando un elevado número de vías metabólicas y mitogénicas a través de la activación de la proteína quinasa C (PKC). A nivel metabólico, los DAGs actúan inhibiendo la vía de señalización insulínica mediante la fosforilación de IRS1 en tejidos periféricos como músculo e hígado. Volviendo al concepto de la importancia de las características cualitativas de los DAGs, es importante señalar que solo uno de los esteroisómeros de DAGs, el 1,2-diacil-sn-glicerol (1,2-DAG) (no (1,3-DGs) y (2,3-DGs)) es capaz de activar PKCs. El 1,2 DAG también parece jugar un papel fisiológico, pero menos caracterizado, en relación al metabolismo de calcio y bioenergética mitocondrial. A priori se cree que el “pool” principal de 1,2-DAGs proviene en su gran mayoría de la hidrólisis de fosfatidilinositol-4,5-fosfato mediada por fosfolipasa C (PLC) en la membrana plasmática. Todavía existe cierta controversia en relación a si otros depósitos de 1,2 DAG (por ejemplo los generados en el retículo vía acilación de sn-glicerol-3-fosfato) también contribuyen al efecto lipotóxico. En base a estos hallazgos, es conveniente visitar algunos de los estudios de lipidómica, y re-analizar de forma específica los niveles de 1,2-DAG en la membrana plasmática frente a los niveles totales de DAG que podrían contribuir a los “falsos positivos/negativos” observados en algunos estudios.





3. Oxidación de fosfolípidos como determinantes de lipotoxicidad. Tanto los ácidos grasos poliinsaturados, normalmente presentes en la posición sn2 del fosfolípido, como los enlaces éter o viniléter de los plasmalógenos/eterlípidos (un tipo de fosfolípido caracterizado por poseer un enlace éter o viniléter en la posición sn1 en lugar de un éster, como los fosfolípidos clásicos, y cuya síntesis se origina en el peroxisoma y se completa en el retículo endoplasmático) son altamente oxidables. Los fosfolípidos oxidados se generan en su gran mayoría a partir de glicerofosfolípidos (poli)insaturados bajo condiciones de estrés oxidativo. Sus características bioquímicas dependen en gran medida de las moléculas oxidantes (radicales o no radicales) tanto de origen endógeno (como resultantes de respiración celular y metabolismo) como exógeno. Además, también puede generarse por la oxidación enzimática de los fosfolípidos (lipooxigenasa LOX).

El proceso de peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) es un proceso complejo. Se inicia tras la formación de hidroperóxidos o radicales peróxido y continúa con una serie de transformaciones que incluyen la formación de fosfolípidos oxidados mediante diversas reacciones bioquímicas que incluyen: a) un proceso de ciclación, reorganización y posterior oxidación que resulta en la formación de isoprostanos, isolevuglandinas, isotromboxanos e isofuranos; b) un

proceso de oxidación adicional y generación de fosfolípidos oxidados no fragmentados, con diversos grupos funcionales (grupos epoxi, ceto, etc) y c) la generación de fosfolípidos oxidados fragmentados lo que da lugar a la formación de una serie de residuos de naturaleza diversa que contienen grupos aldehído terminal o grupos carboxílico o grupos furano. (Para detalle de la química de los fosfolípidos oxidados ver más adelante). En la actualidad, gracias a la continua evolución de las plataformas de análisis de lipidómica es posible detectar formas complejas de lípidos y correlacionarlos con la progresión y empeoramiento de enfermedades metabólicas como diabetes, aterosclerosis y otras enfermedades cardiovasculares. En estas enfermedades la oxidación de fosfolípidos promueve la activación de respuestas inflamatorias y estrés oxidativo como mecanismos moleculares mejor descritos hasta la fecha. El papel patogénico de los fosfolípidos oxidados en relación a obesidad ha sido normalmente asociado a un incremento en los niveles de LDL oxidado así como a la presencia de dislipidemia e hiperglicemia, sin embargo, no solo se limita a eventos cardiovasculares/proatrogénicos, sino que también se ha descrito su papel en relación a ciertos desórdenes neurológicos y otras patologías asociadas con el sistema inmune. Como nota relevante, destacar que existen evidencias que demuestran que ciertos fosfolípidos oxidados son capaces >>>

»» de inducir la acumulación de ceramidas en modelos *in vitro* de macrófagos, lo que *a priori* podría interpretarse como una acción lipotóxica combinada.

### LIPOTOXICIDAD DERIVADA DE MODIFICACIÓN LIPÍDICA DE PROTEÍNAS (ÁCIDOS GRASOS, ISOPRENOIDES Y COLESTEROL)

Además de su papel estructural y de señalización celular, ciertos lípidos también juegan un papel importante en la regulación de la actividad catalítica de enzimas, y en su localización celular, favoreciendo por ejemplo la translocación hacia la membrana plasmática o al núcleo. Ejemplos de estas especies lipídicas incluyen ácidos grasos (palmitato, miristoilato), grupos farnesilo y derivados: preniliación (farnesilación, geranilgeranilación) e incluso colesterol. A pesar de que estas modificaciones lipídicas juegan un papel esencial a nivel fisiológico, también pueden condicionar la modificación “aberrante” de proteínas en el contexto de ciertos estados patofisiológicos. En esta descripción de modificaciones lipídicas determinantes de lipotoxicidad también podrían incluirse las modificaciones mediadas por los productos derivados de la peroxidación lipídica de PUFAs, entre los que podríamos destacar el 4-hidroxinonenal (4HNE), el malonildialdehído (MDA) y la acroleína que además de mediar otros efectos lipotóxicos, pueden formar aductos con las cadenas laterales de aminoácidos (grupos amino o tiol). A este respecto, varias publicaciones han demostrado un incremento de estas especies en el tejido adiposo de modelos de obesidad nutricional en roedores, directamente asociados a alteraciones metabólicas incluyendo procesos inflamatorios.

### CONCLUSIÓN

Existe cada vez más evidencia epidemiológica y experimental de que ciertas especies lipídicas, además de los efectos patológicos derivados de sus alteraciones cuantitativas, también contribuyen dadas sus peculiaridades cualitativas, a la evolución, pronóstico

y respuesta terapéutica de muchas enfermedades cardiometabólicas, entre ellas las asociadas a la obesidad. Entender como esos lípidos se generan, se metabolizan y ejercen su papel patológico en el organismo ofrece una oportunidad única para la identificación de nuevos biomarcadores diagnósticos y pronósticos, así como para el desarrollo de terapias personalizadas específicas dirigidas a los nuevos mecanismos patogénicos identificados con la ayuda de las nuevas tecnologías para utilizadas para la medición y el análisis cualitativo de lípidos. Ello puede permitir una gestión personalizada de las alteraciones metabólicas clínicamente deletéreas en pacientes obesos y la necesidad de acciones terapéuticas y preventivas más allá de las derivadas de los intentos de disminución ponderal en el paciente. ■

**Agradecimientos:** Estos conceptos han emergido de la investigación financiada por el MRC, Wellcome Trust, BHF, FP7MITIN FP7 Etherpaths and EPOS (Elucidating Pathways of Steohepatitis. Grant Agreement 634413).

### PARA LEER MAS

Carobbio S, Rodriguez Cuenca S, Vidal Puig A. “Origins of metabolic complications in obesity: ectopic fat accumulation. The importance of the qualitative aspect of lipotoxicity”. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 14 (2011) 520-26.

Bochkov VN, Oskolkova OV, Birukov, KG, Levenon AL, Binder CJ, Stöckl J. “Generation and biological activities of oxidized phospholipids”. *Antioxid Redox Signal* 12 (2010) 1009-59.

Chaurasia B, Summers SA. “Ceramide - Lipotoxic Inducers of Metabolic Disorders”. *Trends Endocrinol Metab*. 26 (2015) 538-50.

Hentschel A, Zahedi RP, Ahrends R. “Protein lipid modifications. More than just a greasy ballast” *Proteomics*, 16 (2016) 759-82.

Othman A, Saely CH, Muendlein A, Vonbank A, Drexel H, von Eckardstein A, Hornemann T. “Plasma 1-deoxysphingolipids are predictive biomarkers for type 2 diabetes mellitus”. *BMJ Open Diabetes Res Care* 3 (2015) p. e000073.

Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. “Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism”. *Lancet* 375 (2010) 2267-77.