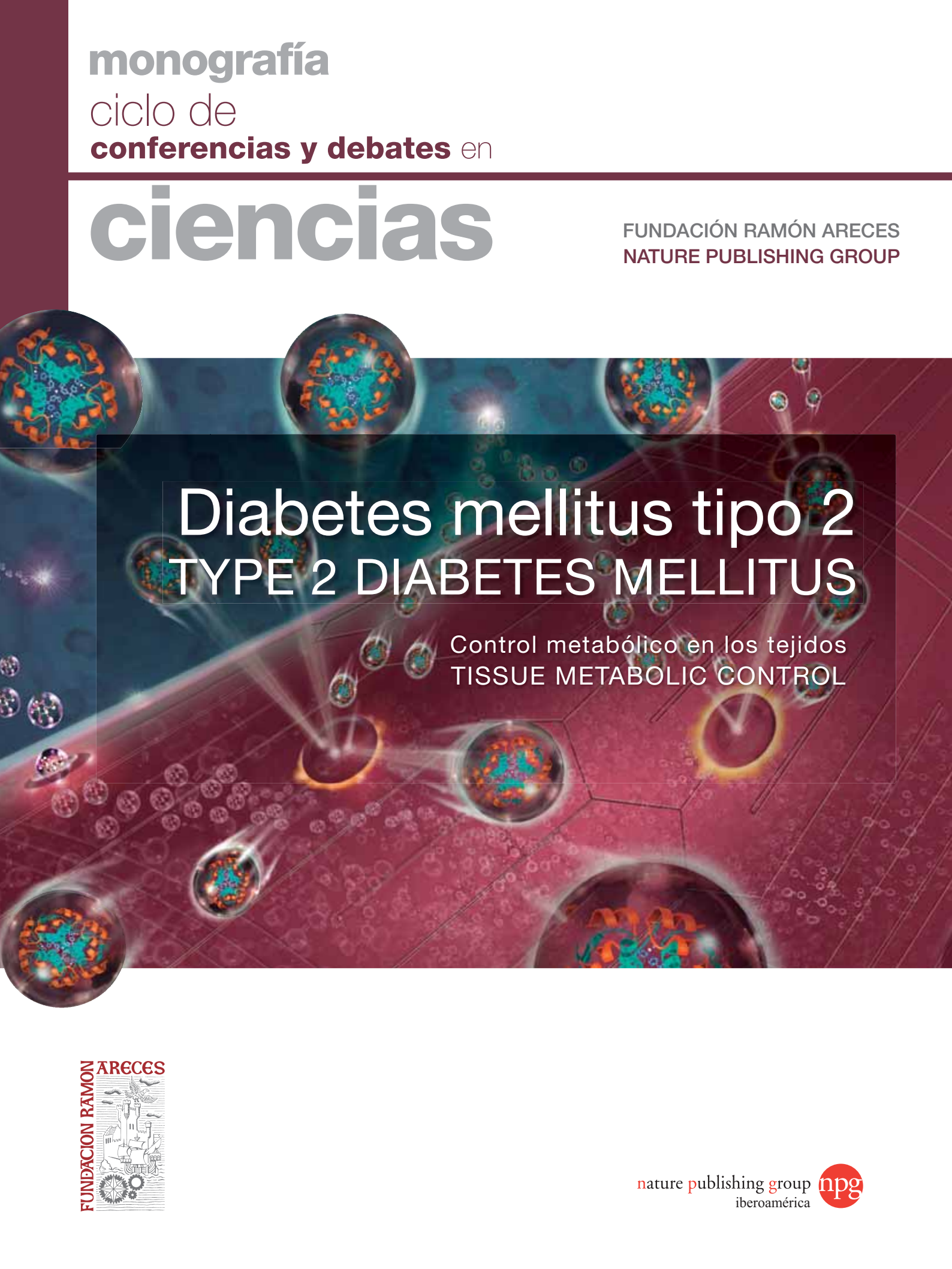


monografía

ciclo de
conferencias y debates en

ciencias

FUNDACIÓN RAMÓN ARECES
NATURE PUBLISHING GROUP

An abstract illustration featuring a grid of hexagonal cells in shades of red and purple. Scattered throughout are various molecular models, including spheres with internal structures and ribbon diagrams. Some cells are highlighted with a bright orange glow. The overall theme is biological and scientific.

Diabetes mellitus tipo 2 TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Control metabólico en los tejidos
TISSUE METABOLIC CONTROL

monografía

ciclo de

conferencias y debates en

ciencias

FUNDACIÓN RAMÓN ARECES
NATURE PUBLISHING GROUP

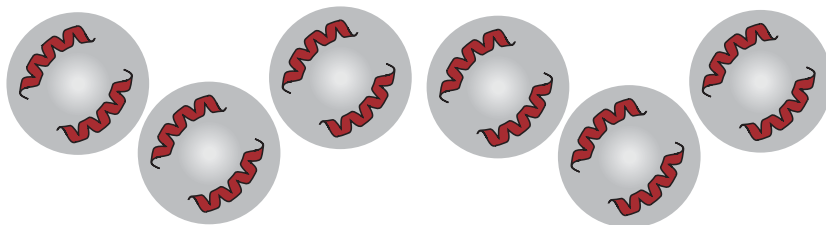
DIABETES MELLITUS TIPO 2 TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Control metabólico en los tejidos
Metabolic control in tissues

Madrid, 6 de febrero de 2014

FUNDACIÓN RAMÓN ARECES

C/ Vitruvio, 5 • 28006 Madrid



nature publishing group
iberoamérica



© 2014 Nature Publishing Group Iberoamérica, S. L.
C/ Capitán Haya 1, edificio Eurocentro, 9º
28010 Madrid (España)
Tel.: (+34) 91 447 46 43
www.npgiberoamerica.com

Depósito legal: M. 5778-2014
Impreso en España – Printed in Spain

ÍNDICE



Diabetes Mellitus tipo 2

PRESENTACIÓN

Federico Mayor Zaragoza	7
José María Medina	8
Javier Cazaña Aguilar	9

INTRODUCCIÓN

Juan Carlos López	13
-------------------	----

CONFERENCIAS

LA INFLAMACIÓN COMO OBJETIVO EN EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2	
Marc Y. Donath	17

NUEVAS TERAPIAS PARA DIABETES Y OBESIDAD	
Matthias Tschöp	25

LA GRASA MARRÓN HUMANA EN EL PUNTO DE MIRA	
Barbara Cannon	33

DEBATE

Juan Carlos López, Marc Y. Donath, Matthias Tschöp y Barbara Cannon	41
---	----



Type 2 Diabetes Mellitus

PRESENTATION

Federico Mayor Zaragoza	53
José María Medina	54
Javier Cazaña Aguilar	55

INTRODUCTION

Juan Carlos López	59
-------------------	----

LECTURES

TARGETING INFLAMMATION IN THE TREATMENT OF TYPE 2 DIABETES	
Marc Y. Donath	63

NOVEL THERAPIES FOR DIABETES AND OBESITY	
Matthias Tschöp	71

HUMAN BROWN FAT IS ON FIRE	
Barbara Cannon	79

DISCUSSION

Juan Carlos López, Marc Y. Donath, Matthias Tschöp and Barbara Cannon	87
---	----

presentación



Federico Mayor Zaragoza

Presidente del Consejo Científico
de la Fundación Ramón Areces

José María Medina

Miembro del Consejo Científico de la
Fundación Ramón Areces

Javier Cazaña Aguilar

Director General de
Nature Publishing Group Iberoamérica





Presentación

Por sexto año consecutivo celebramos un ciclo de Conferencias y Debates en Ciencias de la Fundación Ramón Areces en colaboración con Nature Publishing Group Iberoamérica. Como en las cinco ediciones anteriores, el tema abordado, la Diabetes mellitus tipo 2, representa un problema de salud prevalente e importante.

Enfermedades como ésta han sido una preocupación constante de nuestra institución, la cual, desde sus orígenes, y por expreso deseo de D. Ramón Areces, debía favorecer la investigación científica para que el conocimiento pudiera aplicarse para “paliar o evitar el sufrimiento humano”. De esta manera, buena parte de las ayudas que concede la Fundación Ramón Areces van dirigidas a la biomedicina, sin duda alguna el capítulo más importante de las acciones que se llevan a cabo en el ámbito de las Ciencias de la Vida y de la Materia.

Constituye una satisfacción para la Fundación Ramón Areces acoger una nueva edición de este Ciclo de Conferencias y Debates en Ciencias por el alto nivel científico y el gran interés que ha despertado gracias al prestigio y la calidad de los ponentes. Nuestro agradecimiento más sincero a los conferenciantes y a los profesionales de Nature Publishing Group, en especial al Dr. Juan Carlos López, editor de *Nature Medicine*, y D. Javier Cazaña, director de Nature Publishing Group Iberoamérica, por facilitar la organización de esta jornada y conseguir su máxima difusión. **I**

Federico Mayor Zaragoza

Presidente del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces



En la cuarta edición del Ciclo de Conferencias y Debates en Ciencias celebrado en 2012 y dedicada a las enfermedades autoinmunes, el profesor Peakman del King's College de Londres impartió una excelente conferencia relativa a la etiología molecular y los nuevos tratamientos de la diabetes mellitus tipo 1. En su intervención resumió las principales ideas publicadas en una revisión reciente de *Nature Medicine* sobre los nuevos tratamientos, aquellos que podríamos calificar como “autovacunas” destinadas a vencer definitivamente esta enfermedad.

Tanto la Fundación Ramón Areces como Nature Publishing Group Iberoamérica consideramos la necesidad de ampliar y extender nuestra atención en este campo, aproximándonos en esta ocasión a la diabetes mellitus tipo 2. La razón es bien sencilla: esta enfermedad la padece aproximadamente el 5% de la población mundial. Es, por tanto, la enfermedad metabólica de origen genético más frecuente en el mundo. Si a esto añadimos la nueva clasificación que incluye, junto a la diabetes, otros trastornos que componen el “síndrome metabólico”, podemos considerar que se trata, desde el punto de vista social, de una de las enfermedades más importantes presentes en nuestra vida cotidiana.

El objetivo de esta jornada ha sido contar con las aproximaciones científicas y clínicas más sobresalientes en el abordaje de la diabetes tipo 2, una enfermedad bastante más benigna que la diabetes tipo 1, pero que padecen muchas más personas y que, sobre todo, aún despierta importantes incógnitas, como el hecho de que se desconozca al día de hoy su etiología molecular. Aunque en los últimos años se ha registrado un gran avance acerca de los péptidos intestinales y su función en la secreción de la insulina, aún estamos lejos de saber cómo surge y se desarrolla la enfermedad, y eso se debe a que se trata de un trastorno complejo y multifactorial, en el que no solamente interviene el páncreas, sino también los tejidos centrales y periféricos.

Partiendo de esta realidad, en esta jornada se pasa revista a aquellos tejidos implicados en la enfermedad que, junto con el páncreas, desempeñan una función decisiva en el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2. Asimismo, se muestran los progresos alcanzados en el tratamiento de la enfermedad, a la vez que se avanzan algunas soluciones clínicas de enorme interés y que despiertan grandes expectativas dentro de la comunidad científica.

La Fundación Ramón Areces y Nature Publishing Group Iberoamérica han hecho un esfuerzo enorme por aproximarse a un tema de absoluta actualidad y gran interés sociológico, contando para ello con conferenciantes de referencia mundial y líderes en sus respectivos campos de investigación. ■

José María Medina

Miembro del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces

Según el último informe publicado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), casi un 10% de la población adulta padece diabetes, una enfermedad determinada por una concentración de glucosa en sangre en ayunas igual o mayor a 126 mg/dl. El aumento del riesgo de padecer cardiopatías y accidentes cerebrovasculares son tan sólo algunas de las consecuencias derivadas de la presencia de la diabetes, entre las que también se incluyen la insuficiencia renal, la deficiencia visual, la ceguera, la amputación de las extremidades inferiores y otras muchas.

Durante los últimos años, Europa está experimentando un aumento significativo de la tasa de prevalencia de diabetes, llegando algunos de sus países a superar el 12% de la población adulta afectada por esta patología.

La diabetes mellitus tipo 2 representa el 90% de los casos totales de diabetes a nivel mundial. Se trata de una patología que, en gran medida, es posible prevenir, ya que el riesgo de la resistencia a la insulina se ve aumentado por el exceso de peso, la falta de actividad y la alta ingesta de las grasas saturadas; sin embargo, también su desarrollo está asociado con otros factores, como el grupo étnico, los factores socioeconómicos y las vivencias de los primeros años de la vida. La alta prevalencia y el porcentaje de la población afectada por diabetes tipo 2 han ocasionado que su prevención y su tratamiento se conviertan en una de las prioridades de la mayoría de los sistemas sanitarios del mundo.

En esta nueva edición del ciclo de conferencias y debates volvemos a abordar un tema con gran interés para la ciencia y con mucha repercusión para la sociedad, por el gran nivel de incidencia que tiene esta patología. Éste es el sexto año consecutivo que el acuerdo de la Fundación Ramón Areces y Nature Publishing Group Iberoamérica ha permitido llevar a cabo este acto, en el que participan algunos de los expertos internacionales con más prestigio en esta área.

En esta ocasión, participan como ponentes los profesores Marc Donath, del Hospital Universitario de Basilea, Matthias Tschöp, de la Universidad Técnica de Múnich, y Barbara Cannon, de la Universidad de Estocolmo. Finalmente, y por un problema climatológico imprevisto, no ha podido contarse con la aportación del Dr. Pere Puigserver, profesor de biología celular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Harvard, Boston (EE. UU.).

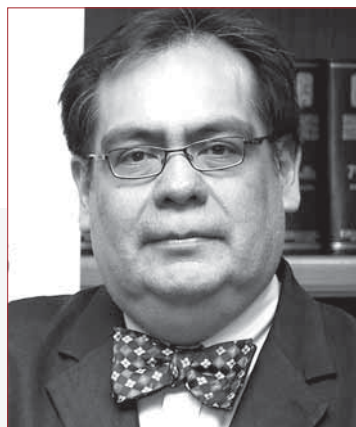
La presentación de este año nuevamente corre a cargo del Dr. Juan Carlos López, editor jefe de *Nature Medicine*, la revista con mayor Factor de Impacto dentro de su categoría.

Al igual que en años anteriores, me gustaría agradecer a la Fundación Ramón Areces, representada aquí por los Dres. Federico Mayor Zaragoza y José María Medina, la apuesta por este acuerdo de colaboración entre ambas sociedades, agradeciendo también al director, al equipo de comunicación y a todo el Consejo Científico de la Fundación la labor que desempeñan para el correcto desarrollo de estos ciclos de conferencias. ■

Javier Cazaña Aguilar

Director General de Nature Publishing Group Iberoamérica

introducción

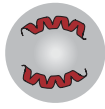


Juan Carlos López

Editor de *Nature Medicine*

Licenciado en Investigación biomédica por la Universidad Nacional Autónoma de México, obtuvo el doctorado en neurobiología y conducta en Columbia University (Nueva York), donde se dedicó al estudio de los mecanismos celulares y moleculares de formas simples de memoria, en el laboratorio de Eric Kandel. Antes de introducirse en el mundo editorial, Juan Carlos trabajó en el Instituto Cajal (CSIC, Madrid), estudiando aspectos funcionales de la neurotransmisión inhibitoria. En noviembre de 1999 fue galardonado con el premio europeo de divulgación científica "Estudi General" por su libro *El Taller de la Memoria*. Actualmente es editor jefe de la revista *Nature Medicine* y previamente lo fue de *Nature Reviews Neuroscience*.





Introducción

El campo de la diabetes es muy amplio, ya que diversos órganos tienen diferentes funciones en el control metabólico. No sólo el páncreas y el tejido adiposo regulan el metabolismo, sino que también el músculo, el cerebro y el hígado tienen funciones cruciales en esta patología, por lo que es necesario tener una visión holística sobre el síndrome metabólico.

En la actualidad, el 25% de la población mayor de 20 años padece síndrome metabólico, pero el perfil de edad media de estos pacientes ha disminuido de forma drástica en los últimos años. ¿Se mantendrá esta tendencia en el futuro? ¿Son eficaces los tratamientos actuales? ¿Se están investigando nuevas dianas terapéuticas?

Muchas de estas dudas se responderán a lo largo de esta reunión, un encuentro en el que se aborda una enfermedad muy seria pero que para mí, desde el punto de vista intelectual, resulta un problema muy interesante. Durante mucho tiempo lo único que se podía hacer en relación con la diabetes era actuar sobre aspectos muy limitados y sobre trastornos puntuales relacionados con la resistencia insulínica y el hígado. Se sabía que había problemas con las grasas, pero no cómo afectaban estos trastornos al origen y desarrollo de la diabetes.

Los últimos diez años han sido cruciales para la comprensión de la diabetes. Ahora sabemos que es una enfermedad mucho más complicada de lo que se pensaba: el cerebro desempeña una función crucial, el músculo también tiene un papel fundamental y el sistema inmune parece ser muy importante; además,

“El 25% de la población mayor de 20 años padece síndrome metabólico, pero el perfil de edad media de estos pacientes ha disminuido de forma drástica en los últimos años.”

sabemos mucho más sobre el tejido adiposo y cómo contribuye a la diabetes, al igual que cómo podemos combatir la enfermedad. Todos estos hallazgos han sido progresivos y revolucionarios, y parece que cada semana aprendemos más sobre la interacción entre los diferentes órganos y cómo su disfunción provoca la patología.

Ésta es la parte buena, que cada vez sabemos más sobre la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Lo malo es que cuanto más sabemos, más difícil es desarrollar nuevas terapias, porque es muy complicado atacar al mismo tiempo todos los frentes que dan origen a este trastorno o que interfieren en su desarrollo. No sabemos si al atacar un objetivo concreto, una diana específica, vamos a tener un efecto terapéutico global.

Por otro lado, es muy difícil conseguir un control adecuado de la enfermedad, puesto que es una patología crónica. Resulta complicado encontrar un tratamiento que sea seguro y que se pueda tomar todos los días durante el resto de la vida sin que se desencadenen efectos secundarios. Por eso, la aprobación de cada



nuevo fármaco para la diabetes está siempre sometida a mucha presión.

Sin embargo, tenemos margen para el optimismo, más aún cuando contamos en este foro con tres expertos internacionales que van a resolver muchos de estos problemas:

los profesores Marc Donath, Matthias Tschöp y Barbara Cannon. Estoy convencido que cualquier día obtendremos una terapia eficaz y segura frente a la diabetes gracias, en gran parte, a la contribución de estos tres destacados investigadores clínicos.



conferencias



LA INFLAMACIÓN COMO OBJETIVO EN EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2

Marc Y. Donath

Catedrático y jefe del Departamento de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo del Hospital Universitario de Basilea, Suiza



NUEVAS TERAPIAS PARA DIABETES Y OBESIDAD

Matthias Tschöp

Director del Instituto Helmholtz para la Diabetes y la Obesidad, jefe del Departamento de Enfermedades Metabólicas y catedrático de Medicina de la Universidad Técnica de Munich, Alemania

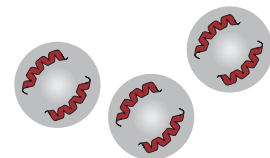


LA GRASA MARRÓN HUMANA EN EL PUNTO DE MIRA

Barbara Cannon

Catedrática de Fisiología y directora del Instituto Wenner-Gren, Universidad de Estocolmo, Suecia





La inflamación como objetivo en el tratamiento de la diabetes tipo 2

Marc Y. Donath

Catedrático y jefe del Departamento de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo del Hospital Universitario de Basilea, Suiza

En los últimos años se han registrado avances significativos en el campo de la diabetes mellitus, una enfermedad que afecta a millones de personas en todo el mundo y cuya prevalencia experimenta un crecimiento exponencial.

En este ámbito se han ido acumulando progresivamente nuevos conocimientos, muchos de ellos ya clásicos pero que aún no se han aplicado totalmente en la práctica clínica. Así, por ejemplo, se sabe desde hace años la función esencial que desempeñan las células β en la diabetes mellitus tipo 2 (DM2); se trata de células pancreáticas localizadas en los islotes de Langerhans, que sintetizan y segregan la insulina, la hormona que controla los niveles de glucosa en la sangre.

El Dr. Marc Y. Donath resumió algunos aspectos clave para el desarrollo de nuevos fármacos para la DM2 basados en la modulación de la inflamación y del sistema inmune. Este experto es pionero en el uso terapéutico de la inhibición de la interleucina 1 (IL-1) en pacientes con DM2 y es el investigador principal de estudios pivotaes publicados en las principales revistas de medicina de todo el mundo.

Una enfermedad dinámica

En la DM2 se produce una disminución de la acción de la insulina, con una alteración de la función de la célula β que inicialmente es capaz de responder con un aumento de la producción de insulina (de ahí que sus niveles estén elevados o normales, con el fin de com-

RESEÑA BIOGRÁFICA

Catedrático y jefe del departamento de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo del Hospital Universitario de Basilea, Suiza, Marc Y. Donath es pionero en el uso terapéutico de la inhibición de la IL-1 en pacientes con diabetes tipo 2 y es el investigador principal en estudios pivotaes publicados en las principales revistas de medicina de todo el mundo.



Marc Y. Donath

pensar el déficit de su acción), pero posteriormente, y si el trastorno continúa, la producción de insulina terminado siendo insuficiente.

Junto a la alternación de las células β , la resistencia a la insulina es otro rasgo característico de la diabetes. Se trata, como lo definió el Dr. Donath, “de un proceso que supone que con la misma cantidad de glucosa se requiera más insulina para producir la absorción tisular”. Durante muchos años, la resistencia a la insulina se ha considerado sinónimo de DM2.

La resistencia insulínica es un trastorno muy común y extendido por todo el mundo, con millones de personas afectadas. Existen múltiples condiciones patológicas comórbidas que se asocian con este trastorno insulínico, como la obesidad. Posiblemente, como estimó el ponente, “no es exagerado decir que en una población como la española por lo menos el 50% de los adultos son resistentes a la insulina”. A pesar de que la diabetes



“Determinar el papel del inflammasoma es crucial para el desarrollo de terapias apropiadas frente a los procesos inflamatorios.”

es una enfermedad extendida, no alcanza estas elevadas tasas de prevalencia. El motivo es, a juicio del experto suizo, “la adaptación de la célula β que produce insulina, un hecho obviado durante muchos años”; y es que, aseguró, “estas células tienen una tremenda capacidad para adaptarse: pueden aumentar su masa y su producción de insulina, lo que permite en muchos casos superar el problema de la resistencia insulínica. Si fracasan estas células en el desarrollo de esta labor crucial, y en lugar de aumentar su funcionalidad y su masa llegan a morir por un proceso de apoptosis, se origina la diabetes”.

La DM2 es una enfermedad progresiva, distinguiéndose en su desarrollo diferentes estadios que van desde la prediabetes hasta la diabetes establecida, en la que existe una dependencia total a la administración exógena de insulina. El dinamismo de la diabetes se debe, fundamentalmente, a los cambios que van sufriendo las células productoras de insulina, mientras que la resistencia insulínica en el mismo individuo es relativamente constante en el tiempo.

¿Por qué fracasan las células productoras de insulina?

El grupo de trabajo del Dr. Marc Donath ha llevado a cabo en los últimos años una intensa y extensa actividad investigadora, con numerosos ensayos preclínicos, enfocada a encontrar las principales causas que explicarían por qué fracasan las células productoras de insulina. Fruto de estos trabajos no sólo se ha podido profundizar en el análisis de estos factores precipitantes, sino que también se ha estudiado el posterior efecto inflamatorio derivado de este fracaso celular.

En un primer momento se trató de investigar cómo fallan las células β y se encontró que los nutrientes pueden estar implicados directamente en la producción de la muerte de estas células (por medio de una muerte celular apoptótica programada). Posteriormente se quiso entender por qué la glucosa inducía la apoptosis en las células β y por qué se originaba una glucotoxicidad (si la célula β estaba expuesta a altos niveles de glucosa dejaba de producir insulina). Como principales observaciones derivadas de esta investigación, se evidenció que cuanto mayor era la exposición a la glucosa (bajo una situación de estrés metabólico) más se elevaba la producción de la citocina IL-1 β ; tras efectuarse pruebas funcionales in vivo, se descartó la posibilidad de que este efecto guardase relación con la ósmosis.

Estos hallazgos no fueron aceptados inicialmente por parte de la comunidad científica, puesto que era escéptica sobre la posibilidad de que un cambio metabólico produjese un fenómeno inmunológico en el área de los islotes pancreáticos, que era dominio habitual de la diabetes 1, pero no de la DM2.

A pesar de estas reticencias, y según explicó el Dr. Donath, “seguimos esta línea de investigación y pudimos comprobar que no eran tan sólo algunas las citocinas implicadas en este proceso, sino que se desencadenaba un proceso inflamatorio muy importante en los islotes pancreáticos”. Previamente, ya se sabía que dentro de los islotes de Langerhans de los pacientes con DM2 existen las áreas blancas, que muestran una fibrosis amiloide, un trastorno que se puede interpretar como la fase final de un proceso inflamatorio crónico. De hecho, esta evidencia debería haber dado lugar, según lo expresó el conferenciante, “a anticipar muchos años antes la hipótesis de que detrás de la DM2 se esconde un proceso inflamatorio crónico”.

Para tratar de corroborar esta idea, el grupo de investigación del Dr. Donath puso en marcha un estudio para evaluar con más detalle la posible existencia de inflamación crónica en los islotes pancreáticos inducida



por estrés metabólico. Así, se identificó el denominado inflammasoma, un conjunto de proteínas citoplasmáticas que se mostró como un buen sensor del sistema inmunológico ante cambios importantes o situaciones de estrés metabólico.

La señalización de la IL-1 está controlada por este inflammasoma, el cual favorece la maduración y secreción de citocinas proinflamatorias como la IL-1 β y la IL-18. El inflammasoma relacionado con la criopirina o NLRP3 (receptor 3 de los nucleótidos ricos en leucina que contienen pirina) es el mejor estudiado hasta la fecha. El NLRP3 puede ser activado por diversos agentes, tales como microorganismos patógenos, ATP extracelular, sílice, asbesto inhalado, factores de estrés y, de forma exógena, por cristales de urato monosódico.

Estas señales de estímulo entran en los monocitos y macrófagos activando el NLRP3, que se despliega y ensambla con otros componentes proteicos del inflammasoma. Esta oligomerización induce la escisión de la procaspasa 1 para formar la caspasa 1 activa, que a su vez escinde a la proIL-1 β para producir IL-1 β , que es liberada. La IL-1 β es una citocina proinflamatoria que se produce principalmente en las células mieloides y que tiene efectos pleiotrópicos. Su síntesis y liberación está regulada por el antagonista del receptor IL-1 (IL-1Ra), un antagonista de la IL-1 β y la IL-1 β . La unión de la IL-1 β a su receptor de tipo I (IL-1RI) conduce a la señalización intracelular y a la transcripción de otros genes proinflamatorios, de ahí que la desregulación de la producción de IL-1 β conlleve consecuencias patológicas. La IL-1 β actúa como un mediador de la respuesta inmune periférica durante la infección y la inflamación. La IL-1 β liberada de la célula provoca numerosas respuestas inflamatorias.

La definición del inflammasoma, sus características estructurales y funcionales han permitido asociar mutaciones en genes de proteínas NLR particulares a desórdenes inflamatorios humanos como el vitíligo (mutación en el gen *NPL1*), el síndrome de Muckle-

Wells (mutación en el gen *NPL3*), la enfermedad de Crohn, la gota o la enfermedad de Alzheimer.

El tratamiento de pacientes con algunas de estas enfermedades con antagonistas de los receptores IL-1 revierte los síntomas clínicos, sugiriendo una relación causa-efecto entre la producción de IL-1 β y la enfermedad. Recientemente se han encontrado evidencias de una estrecha relación entre el inflammasoma y enfermedades metabólicas como la obesidad y la DM2. “Determinar el papel del inflammasoma en estas enfermedades es de gran importancia en el desarrollo de terapias apropiadas y en el conocimiento de los mecanismos que modulan los procesos inflamatorios”, afirmó el ponente.

Traslación clínica

El sistema inmunológico desencadena, ante una amenaza, un proceso de estrés metabólico que termina provocando una enfermedad inflamatoria. Si este proceso se cronifica, termina por generarse un círculo vicioso de “autoinyección” de IL-1 β . Una vez iniciado este proceso inflamatorio, y aunque luego se produzca un descenso de glucosa y desaparezca el estrés metabólico que ha dado lugar a esta alteración, ya no se detiene y tiende a hacerse crónico. Por eso, insistió el Dr. Donath, “creemos que la DM2 es progresiva, aunque se termine por normalizar el nivel de glucosa, ya que una vez iniciado el proceso inflamatorio éste sigue adelante independientemente de que se logre regularizar el nivel de glucosa”.

Esta perpetuación de la inflamación conlleva, además, la activación de numerosos cambios químicos

“Frente a una amenaza, el sistema inmunológico desencadena un proceso de estrés metabólico que termina provocando una enfermedad inflamatoria.”



(alteración de citocinas, quimiocinas, etc., que reclutan macrófagos y activan otras células inmunológicas), agravando aún más la carga inflamatoria en las células β , en el tejido adiposo y en todo el organismo.

Una vez observada la capacidad de la glucosa para inducir la liberación de IL-1 β de los islotes pancreáticos y provocar el inicio de una cascada inflamatoria, el siguiente paso ha sido tratar de trasladar estas evidencias a la práctica clínica, con el objetivo de determinar sus implicaciones reales en el paciente diabético.

Dado que la IL-1 β tiene efectos proinflamatorios, inhibe la función de las células β y promueve su muerte, se postula que su bloqueo podría aumentar la producción de insulina, mejorar la sensibilidad a ésta y disminuir la progresión de la enfermedad.

Partiendo de las evidencias preclínicas y de estas hipótesis, se propuso evaluar el posible efecto sobre la diabetes de un conocido fármaco empleado en artritis reumatoide. Dado que en los pacientes con DM2 las elevadas concentraciones de glucosa inducen la producción de IL-1 en las células β del páncreas, deteriorando la secreción de insulina y disminuyendo la proliferación celular, se consideró aceptable la posibilidad de emplear anakinra (un antagonista recombinante del receptor IL-1 humano) para tratar a pacientes con DM2.

En un ensayo clínico doble ciego aleatorizado se incluyeron 70 pacientes con DM2 (de un total de 312 contactados y 124 sometidos a cribado), administrando anakinra (100 mg por vía subcutánea cada 24 horas durante 13 semanas) o placebo. A las 13 semanas, el nivel de hemoglobina glicosilada (HbA1c) fue el mismo en los dos grupos (8,37), pero la reducción fue más importante en el grupo anakinra (0,33; $p = 0,03$), ya que el nivel basal era más elevado (8,7 frente a 8,2). La glucemia basal fue 1 mmol/l menor en el grupo de anakinra, pero a partir de la semana 4 las diferencias se redujeron (0,5 mmol/l), aunque sin significación estadística. La resistencia a la insulina, la adipocina sérica y el índice de masa corporal fueron similares en los dos grupos. Tal y

como destacó en este foro el Dr. Donath, “ésta fue la primera vez que pudo demostrarse que por medio de una intervención puramente inmunológica se obtenía una mejora en la diabetes; posteriormente, también logramos demostrar que con esta intervención inmunitaria no sólo se mejora la producción de insulina, sino también su calidad (el proceso de evolución de proinsulina a insulina también se optimizó)”. Asimismo, se descubrió una significativa reducción en el nivel de proteína C reactiva (una proteína considerada actualmente como un “termómetro” de la actividad inflamatoria sistémica) y de IL-6 (otro importante marcador inflamatorio).

En un estudio posterior (seguimiento del anterior) se trató a los pacientes durante 3 meses, para luego interrumpir la medicación y hacer un seguimiento de su evolución durante 9 meses más. Tras ese período de tiempo, se mantenía una relevante mejoría en la secreción de insulina, así como una reducción de glucosa y la inflamación sistémica.

En estudios más recientes se ha podido comprobar que si se administra un antagonista del receptor IL-1 humano a personas en fase prediabética también se obtienen beneficios. En estos casos de diabetes en fase muy precoz de desarrollo, en los que se objetiva una deteriorada secreción de insulina, se logra hacer frente de forma eficaz a este trastorno, puesto que con la administración de antagonista del receptor de la IL-1 β se eleva significativamente la secreción de insulina.

En un estudio de Sloan-Lancaster et al. se confirma que el anticuerpo LY2189102 frente a IL-1 β es seguro y bien tolerado, produciendo modestos beneficios en pacientes con DM2. Los resultados de este estudio en fase II sugieren que el bloqueo de la actividad de la citocina es una terapia adyuvante muy prometedora para la diabetes, aunque se necesitan ensayos más grandes y duraderos para establecer esa opción terapéutica. En concreto, estudiaron este anticuerpo comparándolo con placebo en un ensayo multicéntrico, aleatorizado y doble ciego dirigido a determinar su eficacia, seguridad y tolerabilidad.



“Una intervención puramente inmunológica obtuvo una mejoría en la diabetes, mejorando no sólo la producción de insulina, sino también su calidad.”

Entre junio de 2009 y noviembre de 2010, un total de 106 pacientes con diabetes se asignaron de forma aleatoria a diferentes grupos de tratamiento, recibiendo placebo por vía subcutánea una vez a la semana durante 12 semanas o una de las tres dosis de anticuerpo (0,6, 18 o 180 mg). El objetivo primario fue el cambio, desde el inicio, de la concentración media de glucosa en plasma, medida por HbA1c, pero los investigadores también analizaron la glucosa en ayunas, la glucemia posprandial y los biomarcadores inflamatorios, así como la seguridad y la tolerabilidad de cada pauta administrada.

El objetivo primario fue medido en el subgrupo de pacientes (79 en total) que recibieron al menos 11 dosis del fármaco del estudio o placebo. Los investigadores encontraron que, en comparación con placebo, la dosis de 0,6 mg del fármaco se asoció con un 0,27% de caída en la HbA1c después de 12 semanas, mientras que la dosis de 18 mg produjo una reducción del 0,38% y la dosis de 180 mg provocó una disminución del 0,25%.

El efecto fue revertido parcialmente al final del seguimiento, 12 semanas después del final del tratamiento. La glucosa en ayunas se redujo durante la terapia, pero también se recuperó después de la finalización del tratamiento. Además, la glucemia posprandial se redujo significativamente al final de la dosificación del anticuerpo, pero ya no había un efecto significativo al final de las 12 semanas de seguimiento. Hasta un 52% de los pacientes que recibieron dosis de 0,6 mg alcanzaron una HbA1c menor de 7, una meta que tan solo consiguió lograr un 31% de los tratados con dosis de 18 mg y un 26% de los que se sometieron a un tratamiento con 180 mg. Con el uso de LY2189102 también

se registró un incremento en la secreción de insulina. Los investigadores observaron una disminución significativa y rápida de la proteína C reactiva que se puso de manifiesto en la semana 4, alcanzó una disminución promedio de 77% al final de la terapia y persistió hasta el final del seguimiento. Sloan-Lancaster et al. también observaron descensos aparentes en la IL-6, pero sólo alcanzaron significación en el grupo de 180 mg en las semanas 4 y 12.

En cuanto al análisis de seguridad, el anticuerpo fue bien tolerado, con tasas similares de eventos adversos emergentes tanto en el grupo placebo como en los grupos tratados con LY2189102 (74,1 y 77,2%, respectivamente). Los eventos adversos más comunes para todas las dosis combinadas de LY2189102 fueron dolor de cabeza, nasofaringitis, artralgia y diarrea. Cinco pacientes abandonaron el tratamiento debido a eventos adversos, pero los únicos tres acontecimientos graves no se consideraron relacionados con el fármaco del estudio.

Resumiendo los principales resultados de este estudio, el Dr. Donath indicó que “la administración subcutánea semanal de LY2189102 durante 12 semanas fue bien tolerada, produjo una modesta reducción de la HbA1c y de la glucosa en ayunas, y se asoció con unos significativos efectos antiinflamatorios en los pacientes con diabetes”. Los autores del estudio aseguran que la neutralización de la IL-1 β es una prometedora y conveniente opción para el tratamiento adyuvante de la DM2.

El canakinumab es un anticuerpo monoclonal antiIL-1 β totalmente humano cuyo mecanismo de acción se basa en la neutralización de la señalización IL-1 β , lo que conduce a la supresión de la inflamación en pacientes con trastornos de origen autoinmune. Mediante la unión antígeno-anticuerpo, el canakinumab inhibe la acción de la IL1- β evitando sus efectos proinflamatorios.

En pacientes con síndromes periódicos asociados a la criopirina (CAPS), artritis reumatoide y DM2, el canakinumab produce una inhibición rápida y sostenida



de la respuesta de fase aguda que resulta en reducciones sustanciales de la proteína C reactiva (PCR) y la IL-6. Además, este anticuerpo sólo tiene efectos marginales sobre los niveles de lípidos y, por tanto, proporciona un nuevo método para ensayar directamente la hipótesis inflamatoria de la aterotrombosis por inhibición de la inflamación.

En la actualidad, está en evaluación como un nuevo posible agente dirigido frente a la IL-1 β , con el objetivo de reducir la tasa de eventos cardiovasculares y la diabetes de aparición reciente. En el estudio CANTOS, que pretende incluir a más de 10.000 participantes (aunque inicialmente se había diseñado para reclutar a unos 17.000) y que ha previsto prolongarse durante más de 4 años, el objetivo primario es determinar el impacto de este tratamiento (50, 150 o 300 mg subcutáneos cada tres meses en comparación con placebo) sobre los eventos cardiovasculares (determinar la recurrencia de eventos cardiovasculares mayores, definidos como infarto de miocardio no fatal, ictus no mortal o muerte cardiovascular). Como objetivos secundarios, el ensayo pretende evaluar el efecto del tratamiento sobre el riesgo de aparición de nuevos casos de diabetes (teniendo como parámetro si posee glicemia en ayunas normal o alterada) o la progresión de la enfermedad; también se analizará el impacto de la terapia con canakinumab sobre la mortalidad total en pacientes posinfartados y su relación con otros eventos vasculares, incluyendo la hospitalización por angina inestable con necesidad de revascularización.

Diferentes caminos, mismas evidencias

Tal y como resaltó durante su conferencia el Dr. Marc Donath, “similares hallazgos a los obtenidos en este ámbito por nuestro grupo de trabajo se han obtenido a partir de estudios diferentes. En nuestro caso, hemos centrado los trabajos principalmente en el campo de los islotes pancreáticos, pero otros científicos que se han ocupado de áreas diferentes han llegado a observaciones

“Aunque se logre regularizar el nivel de glucosa, el proceso inflamatorio continúa, ya que la diabetes es una enfermedad progresiva.”

y conclusiones muy parecidas a las nuestras en relación con el componente inflamatorio de la diabetes”.

Trabajos focalizados en el tejido adiposo han evaluado el posible beneficio del salsalato, un fármaco utilizado para tratar la artritis reumatoide, capaz de disminuir la glucosa en la sangre y de mejorar el control glucémico en la DM2. Muchos de estos trabajos han sido liderados por Steven Shoelson, quien identificó la inflamación como un factor clave en el desarrollo de la DM2.

En una primera fase (en el año 2010) se evaluaron diferentes dosis de salsalato en un centenar de participantes con DM2 durante 14 semanas. Esos resultados se probaron de nuevo en una segunda etapa, evaluándose casi 300 pacientes con DM2 durante 48 semanas. Después de ese período de tratamiento, el nivel de hemoglobina glicosilada fue un 37% menor. Además, los pacientes que utilizaron salsalato necesitaron menos medicamentos adicionales para controlar su azúcar en sangre que los pacientes que no lo recibieron. Se concluye, por lo tanto, que salsalato puede tener una función importante en el tratamiento de la diabetes y también puede ayudar a aprender más acerca de cómo la inflamación contribuye al desarrollo de la DM2. Además, recalcó el ponente, “estos resultados avalan definitivamente la hipótesis de que la inflamación desempeña un papel crucial en la patogénesis de la DM2”.

Con todo, recientemente se ha comprobado que los pacientes que utilizaron salsalato mostraron aumentos modestos en el colesterol y la albúmina en la orina, y tuvieron un ligero aumento en el peso, lo que puede indicar efectos negativos sobre el corazón o los riñones.



De la misma manera, existen evidencias prometedoras con antagonistas del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α). Pruebas obtenidas hace más de dos décadas indicaban ya el papel determinante del TNF α en la insulinosensibilidad, hallazgos que posteriormente fueron confirmados en estudios con animales. Sin embargo, la posible repetición de los resultados en humanos ha sido controvertida, “sobre todo porque no siempre se pueden trasladar las observaciones de los modelos animales a los humanos y también porque habitualmente no se hace el experimento correcto en la población más adecuada”, advirtió el Dr. Donath.

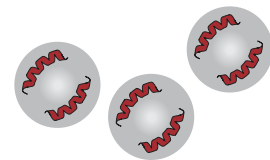
El grupo de trabajo de Marc está diseñando un ambicioso estudio (Inflacomb Study) con el que se pretende evaluar distintas opciones de tratamiento para la diabetes. El estudio incluye hasta 8 pautas diferentes, con 6 meses de tratamiento y 3 de seguimiento: placebo; antiTNF α ; antiIL-1 β ; salsalato; salsalato + antiTNF α ; salsalato + antiIL-1 β ; antiIL-1 β durante 3 meses y sustituirlo por antiTNF α ; triple terapia con salsalato+antiIL-1 β durante 3 meses y luego 3 meses de tratamiento con salsalato + antiTNF α .

La idea de desarrollar este estudio, como argumentó el conferenciante, “parte de la sólida y amplia evidencia que ya tenemos en este campo”. De hecho, añadió, “ya disponemos de numerosos ejemplos clínicos que corroboran la vinculación de estos mediadores de la inflamación en el desarrollo de múltiples

enfermedades”. En concreto, se ha confirmado el efecto positivo del antiTNF α en diabetes, psoriasis o colitis, así como el del antiIL-1 β en diabetes y gota, el de antiTNF α o antiIL-1 β en diabetes y artritis reumatoide, el del salsalato en diabetes y dolor articular, e incluso se especula sobre el posible efecto del antiIL-1 β en diabetes y la enfermedad cardiovascular.

En sus conclusiones, el Dr. Donath afirmó que “hay muchas evidencias experimentales e incipientes hallazgos clínicos que muestran el importante papel de la inflamación en la diabetes. Esto no quiere decir que la inflamación sea la única clave para entender y para abordar la diabetes, pero sí parece que en algunos pacientes esta carga inflamatoria resulta especialmente importante y, por lo tanto, un manejo clínico enfocado a hacer frente a este proceso inflamatorio podría ser muy útil”.

Como acotación final, el ponente presentó un caso clínico propio, de un paciente que acudió a su consulta con diabetes tipo 1 y que, posteriormente, desarrolló enfermedad de Crohn. Debido a esta comorbilidad, se decidió iniciar inmediatamente el tratamiento con un antagonista del TNF α (infliximab, un anticuerpo monoclonal con una potente acción antiinflamatoria). Se obtuvo una rápida y eficaz mejoría de la enfermedad autoinmunitaria, apreciándose también una significativa mejoría en la secreción de insulina y en la sensibilidad insulínica.



Nuevas terapias para diabetes y obesidad

Matthias Tschöp

Director del Instituto Helmholtz para la Diabetes y la Obesidad, jefe del Departamento de Enfermedades Metabólicas y catedrático de Medicina de la Universidad Técnica de Munich, Alemania

Una de las líneas de investigación básica y clínica más esperanzadora en el ámbito de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se centra en el descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas, capaces de proporcionar un abordaje combinado más eficaz frente a este problema. Éste es un campo en el que destaca especialmente el Prof. Matthias Tschöp, que mostró en esta reunión algunos de los trabajos más sobresalientes llevados a cabo en su laboratorio durante los últimos siete años siguiendo un abordaje innovador. Por un lado, han probado una combinación de tres fármacos dirigidos a los adipocitos y al sistema gastrointestinal, que ha demostrado unos beneficios sin precedentes en el control metabólico y de peso en modelos de diabetes y obesidad. Por otro lado, su combinación de un péptido con un esteroide ha sido capaz de revertir los principales síntomas del síndrome metabólico sin provocar destacados efectos adversos ni toxicidad inducida por el uso de estrógenos. Esto representa un enorme avance en la terapia polifarmacéutica para el tratamiento de enfermedades metabólicas como la diabetes y la obesidad.

De la leptina a los nuevos hallazgos

Con trabajos ya clásicos de Friedman et al., en los que se pudo identificar la leptina y sus implicaciones en la obesidad y la diabetes, se inició un nuevo enfoque en el estudio y abordaje de estos problemas de salud.

La leptina es una hormona producida por la grasa que actúa sobre el hipotálamo del cerebro, para regular

RESEÑA BIOGRÁFICA

Licenciado y doctorado en Medicina en 1994 por la Universidad Ludwig-Maximilians de Munich, Alemania. Actualmente es el director del Instituto Helmholtz para la Diabetes y la Obesidad, jefe del departamento de Enfermedades metabólicas y catedrático de Medicina de la Universidad Técnica Munich, Alemania.



Matthias Tschöp

la ingesta de alimentos, el gasto energético y la cantidad de grasa que se acumula en el organismo; también se ha comprobado que la carencia de esta sustancia o de su receptor (área bioquímica que la recibe en el cerebro) conduce a la obesidad. El descubrimiento de este mecanismo, identificado en ratones y humanos, ha abierto nuevas vías de investigación sobre las bases biológicas de la obesidad y ha provocado un importante cambio de paradigma, al demostrar que el peso excesivo no se debe exclusivamente a un comportamiento inadecuado, sino que es la consecuencia de un desequilibrio en un proceso regulado hormonalmente.

Este hito científico lo realizaron el químico canadiense Douglas Coleman y el médico norteamericano Jeffrey Friedman, encargado de demostrar que las hipótesis científicas de Coleman eran correctas. A finales de la década de 1970, Coleman había apuntado



“La obesidad no se debe exclusivamente a hábitos alimenticios poco apropiados, sino que también puede ser consecuencia de un desequilibrio hormonal.”

que debía haber una hormona, entonces desconocida, que regulase la ingesta alimentaria y el peso corporal. Mediante ensayos con ratones de laboratorio, portadores de una mutación que los convertía en extremadamente obesos, se sugirió que este defecto estaba en un único gen. En 1994 Friedman identificó el gen de la hormona leptina, que funciona como había predicho Coleman. Se confirmó así que esta hormona está diseñada para controlar el peso corporal, circula por la sangre y actúa sobre los centros cerebrales que regulan el apetito.

Estos hallazgos motivaron que el equipo de trabajo del Prof. Matthias Tschöp ahondara en este campo, llegando a encontrar una hormona que actúa como un oponente endógeno de la leptina: la grelina. Ésta es una hormona peptídica secretada principalmente por el estómago que el cuerpo utiliza para estimular el hambre y aumentar la ingesta de alimentos. La grelina normalmente se eleva antes de una comida y cae poco después de que los nutrientes comiencen a ser absorbidos en el cuerpo. A medida que se reduce la ingesta de alimentos y la masa grasa en una dieta, los niveles de grelina aumentan, disminuyendo la pérdida de grasa y aumentando el riesgo de recuperar el peso. Como sintetizó el experto alemán, “esta hormona, que también actúa sobre el sistema nervioso central, está asociada con el peso corporal, el apetito y el hambre, tiene efectos sobre el metabolismo de la glucosa y, en definitiva, hace todo lo contrario que la leptina”.

Esta nueva información sobre la leptina y la grelina abrió la posibilidad de plantear nuevas estrategias tera-

péuticas en el control endocrino del peso y en el metabolismo de la glucosa. La modulación de la función de estas hormonas (aportando más leptina y/o bloqueando la grelina) ha permitido examinar nuevas opciones para hacer frente al síndrome metabólico y la DM2.

Sin embargo, los primeros resultados obtenidos en humanos fueron decepcionantes. Tal y como recordó el Prof. Tschöp, “los humanos obesos resistentes a la insulina y que eran diabéticos tipo 2 eran resistentes a la leptina y el bloqueo de la grelina resultaba muy complejo en estos casos”. Esto, continuó explicando, “nos llevó a pensar que había otros actores implicados en este proceso, lo que nos animó a tener en cuenta la función del péptido PYY”. La grelina está íntimamente relacionada con la hormona PYY, actuando las dos en los mismos nervios del hipotálamo.

En sujetos sanos, se han detectado altos niveles de grelina en estados de vigilia; sin embargo, en personas con anorexia nerviosa, reducción de la dieta o cirugía bariátrica también se presenta una elevación de esta enzima. La grelina está relacionada con la obesidad, ya que funciona como regulador de otras enzimas orexígenas como el neuropéptido Y, lo que sugiere que una descompensación en la producción de grelina o en los receptores ubicados en el núcleo arcuato del hipotálamo podría predisponer a una ganancia de peso. Todas estas enzimas tienen como fin común la homeostasis del eje intestino-cerebro, regulando la ingesta de alimento de manera directa e indirecta, la reducción o ganancia del peso corporal, el gasto energético y la digestión de las distintas macromoléculas provenientes de los alimentos, lo que sugiere que cambios en la síntesis de estas enzimas y la expresión de sus respectivos receptores a nivel de sistema nervioso central pueden predisponer a los individuos a padecer sobrepeso u obesidad.

Aprendiendo con la cirugía bariátrica

Asumiendo las dificultades existentes para encontrar el factor determinante para interferir satisfactoriamente



te en la obesidad y la diabetes, el grupo de trabajo del Prof. Tschöp se fijó en una de las pocas intervenciones que, a día de hoy, se asocia con unos buenos resultados en la obesidad mórbida y la resistencia grave a la insulina: la cirugía bariátrica. “Sabíamos que la cirugía bariátrica, así como el *bypass* gástrico o la colocación de una banda gástrica, tienen un impacto inmediato sobre el metabolismo de la glucosa y de los lípidos, incluso mucho antes de que los pacientes hayan llegado a perder peso corporal. Los pacientes sometidos a este tipo de intervención quirúrgica suelen mostrar cambios tan significativos y positivos en el metabolismo de la glucosa que, incluso, son capaces de abandonar el tratamiento con insulina”, apuntó el ponente. A su juicio, y aunque aún se desconocen con detalle los mecanismos intrínsecos involucrados en este fenómeno, “parece ser que la señalización endocrina y neuroendocrina, así como el propio cerebro en sí, desempeñan una función esencial en estos efectos provocados por la cirugía bariátrica”. Por lo tanto, adelantó, “nuestro objetivo fue generar un recurso terapéutico menos agresivo que la cirugía bariátrica, pero que, en realidad, consiguiese engañar al cerebro y le hiciera creer que se había sometido al estómago a este tipo de intervención”.

Con este fin se iniciaron los trabajos para diseñar y desarrollar una intervención menos traumática que la cirugía bariátrica. Científicos de la Universidad de Cincinnati y del Instituto Helmholtz de Múnich estudiaron la concentración de la hormona péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) intestinal en un modelo de roedores de obesidad inducida por la dieta.

Se midió la GLP-1 activa y total mediante un ensayo de electroquimioluminiscencia. Después de la cirugía de *bypass* gástrico, se observa cómo la concentración de la hormona intestinal GLP-1 en la sangre se eleva de manera significativa. La GLP-1 aumenta la secreción de insulina y contribuye a la mejoría de los niveles de glucosa y de lípidos en la sangre. En el estudio con roedores, la respuesta de la GLP-1 varió considerablemente

“La leptina y la grelina tienen efectos opuestos sobre el metabolismo de la glucosa, el peso corporal, el apetito y el hambre.”

respecto al metabolismo de la glucosa y, lo más importante, se evidenció que cuanto más sensibles eran los animales a la GLP-1, mayor era la eficacia de la derivación gástrica para mejorar el metabolismo de la glucosa.

Los autores concluyen su estudio señalando que el sistema GLP-1 puede ofrecer un potencial sin explotar, pudiendo erigirse como un nuevo biomarcador para los métodos personalizados en el tratamiento de la DM2 y la obesidad, aconsejando la puesta en marcha de estudios clínicos en pacientes obesos y con DM2 para probar si este novedoso biomarcador muestra la misma promesa, o incluso mayor, en los seres humanos y se puede utilizarse para predecir los beneficios, así como para prevenir los riesgos innecesarios de la cirugía bariátrica.

Siguiendo esta línea de trabajo, se ha probado también que la combinación de una intervención para la colocación de una banda gástrica junto con GLP-1 se asocia con una mayor reducción de peso corporal en comparación con el empleo único de la banda gástrica (y similar a la lograda con el *bypass*). Según explicó el ponente, “aunque, por motivos obvios, este tipo de experimentos no podría hacerse en humanos, sí nos sirvió como prueba sólida para demostrar los beneficios que podía ofrecernos combinar varias hormonas clave (como el GLP-1 o el glucagón), que actúan en el cerebro, el páncreas y/o el estómago; esta estrategia terapéutica podría asociarse con unos resultados similares a los que alcanzan con la cirugía y, por lo tanto, podrían ahorrar este tipo de intervenciones más agresivas”.

A partir de estos trabajos, y en colaboración con el químico Richard DiMarchi, el grupo investigador de Matthias Tschöp dio un paso más en este campo, “con



el fin último de tratar de incorporar las diferentes señales identificadas, incluirlas en una molécula y que ésta pudiera dirigirse a distintas vías al mismo tiempo, obteniendo así un tratamiento más eficaz y seguro contra la diabetes”.

Como aclaración, el ponente puntualizó que, aunque el glucagón eleva la producción de glucosa, siendo una de las principales hormonas hiperglucemiantes del organismo, “también es verdad que impulsa la lipólisis o la termogénesis (ayuda a quemar calorías)”. Por eso se pensó en la posibilidad de seleccionar únicamente esa función del glucagón para quemar calorías y, en combinación con las acciones positivas que se derivan de la GLP-1 (favorece la secreción de insulina, la sensación de saciedad...), crear una molécula única, una “superhormona”, que generase de forma simultánea todos los efectos beneficiosos que se precisan: deshacer la grasa, reducir la sensación de hambre y mejorar el metabolismo de la glucosa, imitando todas las ventajas que ofrece la cirugía bariátrica.

Basándose en la idea de que el metabolismo y la homeostasis de la glucosa están controlados principalmente por las hormonas pancreáticas, la insulina y el glucagón, se han desarrollado distintos medicamentos dirigidos a modular las acciones del glucagón a nivel de su receptor. La identificación del glucagón como una hormona capaz de regular la insulina ha impulsado el estudio de otros efectos que se derivan del agonismo del glucagón, como su papel sobre el metabolismo lipídico, el equilibrio de energía, la masa de tejido adiposo corporal o la ingesta de alimentos. La capacidad del glucagón para estimular el gasto de energía, junto con sus efectos hipolipídicos y saciantes, convierten a esta hormona en un atractivo objetivo farmacológico. Su combinación con la GLP-1 ha confirmado el beneficio que se puede alcanzar, por ejemplo, en el manejo del síndrome metabólico.

La base del trabajo se fundamentó inicialmente en la identificación de importantes similitudes en la estructu-

ra química de la GLP-1 y el péptido inhibitorio gástrico (GIP), hormonas formadas por el aparato digestivo y que controlan la ingesta alimentaria y numerosos procesos metabólicos. Estas semejanzas encontradas sugerían la posibilidad de crear una molécula única. Científicos del Instituto Helmholtz y la Universidad Técnica de Mú-nich, en colaboración con Richard DiMarchi, de la Universidad de Indiana, y otros expertos de la Universidad de Cincinnati, consiguieron desarrollar con éxito una estructura molecular que combinaba los efectos de las dos hormonas.

Esta nueva molécula estimula simultáneamente dos receptores (GLP-1 y GIP) y, por lo tanto, maximiza los efectos metabólicos en comparación con el empleo único de cada una de las hormonas intestinales. Los coagonistas descubiertos de GLP-1/GIP inducen una importante mejoría de los niveles de azúcar en sangre y provocan una significativa reducción del peso, así como una disminución de la grasa de la sangre. Los investigadores observaron que la nueva sustancia mejora sustancialmente el metabolismo en seres humanos, además de inducir otros efectos positivos. Al mismo tiempo, esta aproximación terapéutica se asocia con menos efectos adversos (menor presencia de efectos adversos gastrointestinales) en comparación con el empleo individual de cada hormona.

En trabajos dirigidos por John Day se ha evaluado el efecto de la selección de los coagonistas glucagón/GLP-1R en el tratamiento del síndrome metabólico. Así, se ha podido describir la eficacia de un nuevo péptido con agonismo al glucagón y a los receptores de GLP-1 que tiene potentes efectos lipolíticos y que induce una saciedad mantenida. Una modificación química selectiva del glucagón ha permitido una pérdida de especificidad, con mínimos cambios en su actividad inherente. Tal y como se pone de manifiesto en este trabajo, la base estructural para el coagonismo parece ser una combinación de interacciones posicionales locales y un cambio en la estructura secundaria.



Dos péptidos coagonistas, que difieren entre sí sólo en su nivel de agonismo del receptor de glucagón, fueron estudiados en modelos murinos experimentales de obesidad. Se administraron péptidos PEGilados una vez por semana, lográndose una normalización de la adiposidad y tolerancia a la glucosa en ratones obesos (engordados por medio de una dieta rica en grasas). La reducción de peso corporal se logró por una pérdida de grasa corporal producto de la disminución de la ingesta de alimentos y el aumento del gasto de energía. En el estudio se probaron diferentes alternativas de tratamiento con este péptido, con distintas proporciones de glucagón y de GLP-1R. Como destacó el Prof. Tschöp, “resultó especialmente espectacular comprobar que en tan solo un mes los ratones obesos sometidos a este tratamiento con glucagón/GLP-1R perdían peso en una proporción similar la que se documenta con la cirugía bariátrica. Además, se comprobó que cuando el péptido contenía una mayor cantidad de glucagón, la reducción del peso era mayor”.

Aparte de la evidente y significativa pérdida de peso, los experimentos demuestran que se reducen los niveles de insulina y se mejora la tolerancia a la glucosa. Actualmente también se están investigando los efectos a largo plazo de los coagonistas glucagón/GLP-1R en estos modelos de ratas.

También se ha evaluado qué pasaría si en este doble agonista se elimina el agonismo del receptor de GLP-1, comprobándose que se mantienen algunos de los beneficios observados. Se puede concluir, por lo tanto, que con el agonismo del receptor glucagón también se logran disminuciones importantes de la masa grasa, pero inferiores a las obtenidas cuando se emplea conjuntamente el agonismo del receptor de GLP-1 y el agonismo del GLP-1R.

Aproximándose a la clínica

Partiendo de los esperanzadores hallazgos obtenidos, se ha dado un paso más en esta nueva estrategia de tratamiento de la obesidad y de la DM2 basada en la

“El objetivo de las terapias combinadas es engañar al cerebro y hacerle creer que se ha sometido al estómago a una cirugía bariátrica, ahorrando esta intervención más agresiva.”

combinación de hormonas intestinales que tienen una incidencia directa en el cerebro.

Se ha tratado de determinar el posible efecto que se obtendría con la combinación de dos incretinas, sabiendo que los efectos farmacológicos de GIP (polipéptido insulínotropo dependiente de glucosa) son complementarios a los obtenidos con GLP-1. Se pretendía, en este caso, profundizar en el conocimiento de los efectos que se podrían lograr con la combinación de dos hormonas capaces de estimular la secreción de insulina o de interferir satisfactoriamente en la biosíntesis de insulina, la proliferación de células β o la propia supervivencia de las células β .

Las incretinas son hormonas intestinales que participan en la homeostasia de la glucemia y que son liberadas al torrente circulatorio después de la ingestión de una comida, regulando la secreción de insulina y glucagón de manera dependiente de la glucosa (el aumento de insulina y el descenso de glucagón reducen la producción hepática de glucosa). Además, son agentes secretores de insulina que poseen un interesante mecanismo de acción para el tratamiento de pacientes con DM2 en combinación con antidiabéticos orales o insulina, quedando suficientemente demostrada su eficacia para disminuir la hiperglucemia en estos pacientes. Ya en el año 1932 se describió la relación entre estas sustancias y la secreción endocrina del páncreas (encargado de la producción de insulina) y se utilizó por vez primera el término “incretina” (acrónimo de *intestinal secretion of insulina*), y en 1964 se describió el “efecto incretina”.



Localizadas en el intestino, las incretinas participan en la liberación de insulina que se produce después de comer, convirtiéndose en los últimos años en una de las dianas farmacológicas más esperanzadoras para el desarrollo de nuevos antidiabéticos. El problema es los fármacos desarrollados hasta el momento no son muy efectivos si no se administran en grandes dosis, lo que puede causar efectos secundarios (como náuseas).

Para resolver esta cuestión, se ha optado por el diseño de una molécula que activa ambos receptores (GLP-1 y GIP), en vez de estimular únicamente el receptor de una de las incretinas. Se creó una nueva molécula que incluía las dos hormonas peptídicas, fundamentales para la regulación corporal del metabolismo. Los resultados demuestran que GLP-1 y GIP, cuando se combinan en una sola molécula, producen una sinergia capaz de controlar la glucosa y disminuir el peso corporal en modelos animales.

Según los autores de estos estudios, dirigidos por Brian Finan, combinar estas dos hormonas fisiológicas es un enfoque único y beneficioso para el tratamiento de llamado síndrome metabólico y representa un importante paso en la búsqueda de alternativas terapéuticas más eficaces. Para el ponente, “la clave de la innovación es el hecho de contar con una molécula que ha sido capaz de encarnar lo mejor de ambas incretinas (GLP y GIP); no se trata únicamente de mezclar ambas hormonas y unir las sin más en una sola molécula, sino que existe un refinado y sofisticado trabajo químico que permite potenciar su sinergia”.

Tras probar su nuevo compuesto en roedores y monos obesos con DM2, evidenciando que el tratamiento reducía de forma mantenida el peso corporal y mejoraba la glucosa en la sangre de los animales (en comparación con liraglutida), se decidió iniciar un pequeño estudio en humanos. Diseñaron un ensayo clínico y probaron el producto en 53 pacientes obesos con DM2 durante 6 semanas. Los resultados mostraron que los pacientes tratados secretaron más insulina, pero tam-

bién presentaban mejores niveles de glucosa y una mayor pérdida de peso en comparación con los pacientes no tratados con esta molécula; se comprueba, además, que el tratamiento unimolecular GIP-GLP mejora la HbA1c en humanos de forma dependiente de la dosis. No obstante, reconocen los investigadores que los datos a 6 semanas no son significativos como para proporcionar una evidencia definitiva acerca del control de la obesidad en humanos.

Otro aspecto positivo del ensayo clínico es que tampoco se apreciaron efectos secundarios, sobre todo por la potenciación farmacocinética del fármaco. Gracias a su pegilación, se favorece una reducción de la frecuencia de dosis y disminuye la exposición pico al fármaco y, en combinación con una menor dependencia de la farmacología mediada por GLP-1, se evitan los efectos gastrointestinales adversos que caracterizan los agonistas de GLP-1. Es más, la mayor potencia de la molécula sugiere que podría administrarse en dosis más bajas que las incretinas desarrolladas anteriormente, con lo que se reducirían los efectos secundarios (como náuseas y vómitos).

Las incretinas duales unimoleculares corrigen dos mecanismos causales de la diabetes y la obesidad, como la resistencia a la insulina inducida por la obesidad y la deficiencia de insulina del páncreas, realizando esta labor con más eficacia que los agentes selectivos monoagonistas. Según sintetizó el Prof. Matthias Tschöp, “la acción dual de estos fármacos muestra un prometedor abordaje de la diabetes, puesto que estas moléculas logran un control eficaz de la glucosa en humanos y también favorecen la pérdida de peso”.

De la doble a la triple terapia

Continuando con esta senda investigadora, y siguiendo con el concepto de utilizar hormonas endógenas y combinar agonismo a más de un receptor dentro de un único péptido (incluyendo una vía capaz de reducir la ingesta alimentaria y otra que se dirija a elevar el gasto



energético), recientemente se ha evaluado el efecto derivado de un péptido triagonista que integra tres componentes: GLP, glucagón y GIP. Utilizando el modelo animal de ratones engordados a base de una dieta rica en calorías y azúcar, se ha observado que el péptido triagonista ofrece algunas ventajas diferenciales respecto a las inyecciones subcutáneas del abordaje coagonista.

Estos trabajos muestran que si se administra una única molécula que actúa sobre tres rutas al mismo tiempo, se obtiene una acusada disminución del peso, alcanzando nuevamente un efecto muy similar al obtenido con una intervención de cirugía bariátrica. Como resumió gráficamente el ponente, “aunque se nos estén escapando otros factores importantes, en general parece que los efectos beneficiosos de una cirugía gástrica los podemos conseguir igual al incluir en una jeringuilla una terapia triagonista”; a su juicio, parece que hemos podido desentrañar parte de los aspectos moleculares clave que hay detrás de la cirugía y llevarlos a un fármaco.

Incorporando estrógenos

También se ha probado con éxito la posibilidad de combinar en una única molécula otros dos componentes: un péptido con beneficios metabólicos y un esteroide que también aporte otros efectos metabólicos positivos adicionales. Trabajos de Richard DiMarchi y Matthias Tschöp han demostrado que el estrógeno, una hormona femenina, puede ser manipulado para ser más eficaz en el tratamiento de la obesidad y la diabetes. La hipótesis inicial era que mediante la combinación del estrógeno con un péptido similar al GLP-1 sería posible crear una molécula única con menores efectos secundarios.

La justificación de esta combinación es clara. El GLP-1 es una hormona peptídica del sistema digestivo que se utiliza en fármacos para tratar la DM2, fármacos que mejoran el control de la glucosa en la sangre y pueden conducir a una pérdida de peso, pero no lo

suficiente como para ser usados como medicamentos para bajar de peso.

Del mismo modo, el estrógeno es otra hormona que puede causar la pérdida de peso mediante la regulación de algunos receptores cerebrales. Se trata, además, de una hormona que ejerce acciones esenciales en diferentes zonas del cuerpo: en el hipotálamo, aumento de gasto energético y reducción de la ingesta de alimentos; en el hígado, incremento de la sensibilidad a la insulina, disminución de la litogénesis y de la producción de glucosa; en el tejido adiposo, disminución de la litogénesis y de la acumulación de triglicéridos; y, en los islotes pancreáticos, reducción de la apoptosis de células β , elevación de la supervivencia de células β , aumento de la secreción y producción de insulina. Sin embargo, también es cierto que su efecto puede ser deletéreo en otras localizaciones: por ejemplo, en el tejido de mama y en el útero, los estrógenos inducen un aumento del potencial oncogénico. Estos posibles efectos secundarios relacionados con el aumento del riesgo de cáncer, especialmente de mama y de ovarios, limitan su uso para reducir el peso y/o combatir la diabetes.

Por ello se pensó en la posibilidad de incorporar estos estrógenos en un GLP-1, transportándolos hacia el páncreas pero sin alcanzar esas otras localizaciones donde la acumulación estrogénica puede tener potencial oncogénico; en definitiva, se trataba de hacer llegar poderosas hormonas nucleares a tejidos específicos sin afectar los demás.

En concreto, se diseñó un péptido capaz de unirse de forma reversible al estrógeno, combinando GLP-1 con conjugados estrogénicos, y administrándolo en ratones de laboratorio obesos. La utilización de péptidos intestinales naturales destinados a los receptores de la membrana celular, incluyendo esteroides pequeños, hizo posible alcanzar el lugar exacto donde se expresa su receptor péptido específico en la superficie celular. Desgranando algunos detalles más del funcionamiento de esta combinación, el científico alemán explicó lo



que denominó “teoría de la liberación selectiva”: se ha sintetizado un conjugado químicamente estable, que es una hormona GLP-1 cargada con estrógeno (GLP-1 + β -estradiol-3-eter), que se dirige exclusivamente a las células diana; una vez allí, esta molécula se une al receptor de membrana, se internaliza y se descompone dentro de las células, activa el receptor del núcleo y empieza a desarrollar su efecto. En el caso del útero y la mama, ante la ausencia de receptores de GLP-1, no se producirá esta unión química en estas localizaciones y, por lo tanto, no se desencadenará el efecto estrogénico.

Los autores de la investigación encontraron en los ratones analizados que la combinación era más eficaz que usar cualquiera de los compuestos por separado. El tratamiento con GLP-1/E2 (estradiol) estable aumenta significativamente los efectos del GLP-1; de hecho, el empleo de GLP-1 estable + estrógeno (400 μ g/kg/día) es la pauta que se asocia con una mayor reducción del peso corporal, estableciéndose diferencias estadísticamente significativas con el resto de opciones evaluadas (dosis bajas o altas de GLP-1 agonista, GLP-1 frágil + estrógeno a dosis bajas o altas...).

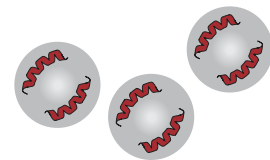
El GLP-1 actúa como una especie de guía para el estrógeno, llevándolo al hipotálamo y al páncreas para ser metabolizado. Pero, además, la cooperación tan precisa entre el péptido y la hormona, combinados en una sola molécula, reduce la probabilidad de que el estrógeno desarrolle el crecimiento de tumores o cáncer. Se confirma, por ejemplo, que el empleo de GLP-1/E2 estable evita la

acción uterotrófica y no ejerce un efecto oncogénico en el tejido mamario.

“Esto significa un gran avance, ya que se obtienen dos beneficios, perder peso y administrar la glucosa sin las toxicidades asociadas al estrógeno, maximizando los beneficios metabólicos y minimizando la toxicidad potencial gracias a que la molécula se dirige específicamente a un subgrupo de receptores estrogénicos en las células transportadoras del receptor GLP-1”, aseguró en este foro el Prof. Tschöp.

El siguiente paso, como adelantó este experto, “sería probar otras combinaciones de hormonas peptídicas y esteroides, con la intención de descubrir nuevos tratamientos para más enfermedades, aunque de momento no se descarta realizar una investigación exhaustiva para comprobar su seguridad”.

Todos estos trabajos han permitido concebir una nueva clase de fármacos capaces de liberar esteroides y pequeñas moléculas por medio de hormonas híbridas “turbocargadas”, a través de receptores de membrana específicamente dirigidos. “Ahora podemos pensar en el desarrollo de fármacos capaces de actuar en una diana específica, sin interferir en otras zonas que, por diferentes motivos, no interesa modificar”, sentenció el ponente, quien también llamó la atención sobre incipientes trabajos que se están desarrollando siguiendo este concepto. Así, por ejemplo, actualmente están evaluando el efecto que se obtiene al añadir un glucocorticoide a un GLP-1, con el objetivo de intervenir eficazmente en la cascada inflamatoria presente en la diabetes. ■



La grasa marrón humana en el punto de mira

Barbara Cannon

Catedrática de Fisiología y Directora del Instituto Wenner-Gren, Universidad de Estocolmo (Suecia)

El descubrimiento de la grasa marrón y los posteriores trabajos que han permitido concretar sus funciones, así como su presumible capacidad para prevenir y atacar la obesidad, han supuesto un acicate en la lucha contra la diabetes y contra la propia obesidad. Tal ha sido su impacto y se considera tan importante que, incluso, como la calificó en esta reunión la Dra. Barbara Cannon, “el tejido adiposo marrón se reconoce ya como un nuevo órgano en los humanos adultos. En este sentido, es como si ahora estuviésemos viviendo en la Edad Media y dijésemos que hemos descubierto un nuevo órgano, que es el corazón y que éste funciona como una bomba”.

Durante los últimos años se ha descubierto que la grasa marrón humana no sólo mantiene caliente el organismo humano, sino que desempeña una función crucial al “quemar” el exceso de energía, contrarrestando así los efectos del síndrome metabólico, para lo cual no existe ningún otro mecanismo. Esta función se está investigando actualmente para poderla explotar en el desarrollo de nuevos fármacos.

Un antes y un después

Antes de 2007, el tejido adiposo marrón sólo había podido ser detectado en recién nacidos. Posteriormente, ha sido posible identificar también su existencia en adultos, un hallazgo que podría constituir la base de un tratamiento contra la obesidad en un futuro próximo si se encuentra la forma definitiva de aumentar la activi-

RESEÑA BIOGRÁFICA

Licenciada en Bioquímica por la Universidad de Londres y doctorada en Fisiología por la Universidad de Estocolmo. Ha sido la directora del Instituto, decana de Biología en la Universidad de Estocolmo, vicepresidenta de la Real Academia Sueca de Ciencias y la presidenta del Comité de la Fundación Nobel. En la actualidad es catedrática de Fisiología en el Instituto Wenner-Gren.



Barbara Cannon

dad de dicha grasa. El tejido adiposo marrón puede ser metabólicamente importante en humanos, y el hecho de que esté reducido, aunque todavía presente en la mayoría de las personas con sobrepeso u obesas, puede ser fundamental para el tratamiento de la obesidad.

La grasa marrón es un tejido que consume energía para aumentar la temperatura corporal. Es un tipo especial de grasa con una gran concentración de mitocondrias (son oscuras y de ahí el color marrón de este tejido) y que quema energía para proporcionársela al organismo y elevar su temperatura cuando hace frío. Según explicó la Dra. Barbara Cannon, “la función principal de la grasa marrón es producir calor, bien para la termorregulación o para la regulación del balance de energía”.

Hasta hace poco tiempo, se sabía de su existencia en ratones y en niños, habiéndose documentado que los recién nacidos presentan una cantidad considerable



de grasa marrón. Sin embargo, se pensaba que en las personas adultas no existía este tejido o que éste se encontraba inactivo.

Grasa marrón también en adultos

Recientes trabajos independientes han demostrado que, en diferentes cantidades y grados de actividad, este tejido adiposo también se encuentra en los adultos. Dichos trabajos (del Centro de Diabetología Joslin de Boston, la Universidad de Maastricht en Holanda y otros centros de Finlandia y Suecia) se han publicado en *The New England Journal of Medicine*.

La herramienta básica para poder identificar este tejido y medir su nivel de actividad en adultos ha sido la combinación de la tomografía por emisión de positrones (PET) y la tomografía axial computerizada (TAC). Se pudo demostrar, por ejemplo, que en todos los pacientes la captación de este tejido estaba claramente localizada dentro del tejido graso de los hombros.

Además, las nuevas técnicas de imagen como la tomografía por emisión de positrones con fluorodeoxiglucosa (FDG-PET) han proporcionado un hallazgo colateral y sorprendente: la visualización de áreas con grasa marrón en adultos en las regiones supraclavicular y del cuello, con depósitos adicionales paravertebrales, mediastínicos o paraaórticos y suprarrenales, pero no interescapulares (como los que existen en los recién nacidos).

Se ha podido establecer que los depósitos observados originalmente por FDG-PET son realmente depósitos de tejido adiposo marrón, porque están enriquecidos en la proteína de desacople 1 (UCP-1). Se deduce que la baja prevalencia de tejido adiposo marrón, en base a estudios retrospectivos de documentos hospitalarios archivados de imágenes FDG-PET, se debe a la subestimación de la verdadera prevalencia, ya que sólo refleja un estado agudo de actividad; consecuentemente, estos estudios retrospectivos no permiten analizar de forma concluyente los factores que influyen la actividad y la cantidad de tejido adiposo marrón.

La combinación de innovadoras técnicas de imagen ha permitido saber que la presencia de grasa marrón varía mucho de unos individuos a otros en función de la edad (decrece con los años), el nivel de glucosa (más cantidad en individuos con niveles normales) y el sexo (más en mujeres que en hombres). Pero la relación más importante es con el índice de masa corporal (IMC), ya que a mayor obesidad, menos grasa marrón. Esto apunta con claridad a que la presencia de este tejido podría proteger contra el sobrepeso. Asimismo, se encontró que el ambiente frío activa la grasa marrón, como era de esperar, para producir más calor.

Termogénesis

Clásicamente, como explicó la Dra. Cannon, “sabíamos que la grasa marrón cumplía algunas funciones básicas en los neonatos y en los animales mamíferos, como el hecho de mantener la temperatura tras el parto, contrarrestando el estrés que supone pasar de un medio caliente a un ambiente más frío. Igualmente, en aquellos animales que hibernan, esta grasa es la principal responsable de que puedan mantenerse en una temperatura estable y aceptable, ejerciendo una función básica para facilitar su despertar tras este período de letargo”. La grasa marrón ejerce una importante función en el feto y el recién nacido, llegando a representar el 2-5% de su peso corporal; su papel principal es termogénico durante el primer año de vida, al final del cual se creía prácticamente desaparecida en su totalidad, transformándose en grasa blanca o amarilla.

También en trabajos previos se había podido localizar el lugar más habitual en el que se sitúa la grasa marrón en los recién nacidos, estableciéndose como principales zonas de ubicación entre las escápulas, las axilas, la nuca y alrededor de los grandes vasos del tronco. Posteriormente se ha podido confirmar que la distribución de este tejido adiposo está diseminada también por otras localizaciones del cuerpo humano.



El tejido adiposo marrón se caracteriza por presentar adipocitos o células grasas con un gran núcleo central, amplio citoplasma y mitocondrias muy numerosas, redondeadas con crestas muy juntas y bien desarrolladas. Estas mitocondrias contienen citocromos que les confieren ese color oscuro característico. En el citoplasma se encuentran dispersas varias gotas de ácidos grasos de distinto tamaño, que durante la preparación histológica rutinaria se pierden disueltas en los distintos alcoholes, proporcionando el aspecto agujereado característico al observarlo al microscopio. Los adipocitos son poligonales y grandes, aunque más pequeños que las células del tejido graso blanco. Estas distinciones no son absolutas, puesto que los adipocitos pueden ser unilobulares y tener un reducido número de mitocondrias cuando los niveles de termogénesis son bajos.

La grasa marrón se caracteriza por estar lobulada, recordando a una glándula. Tiene más capilares que el tejido adiposo blanco, así como numerosas terminaciones nerviosas simpáticas. Después de un ayuno prolongado, las células adoptan un aspecto similar a un epitelio, acentuándose la semejanza con una glándula.

Los ácidos grasos almacenados en la grasa marrón se usan directamente por el tejido en el que están almacenados, aunque también pueden movilizarse y ser utilizados en situaciones críticas por otros tejidos.

Los mamíferos deben mantener su temperatura corporal dentro de un margen muy estrecho de temperatura. En el desarrollo embrionario y fetal, el nuevo ser se encuentra aislado de la temperatura ambiente por lo cual no posee una termorregulación. En el momento del nacimiento, el recién nacido debe hacer uso de una termogénesis obligatoria del metabolismo celular y una disipación calórica superficial, para lo cual se cuenta con el tejido adiposo marrón, que posee una función termogénica esencial que se usará tras el nacimiento.

Tal y como detalló la conferenciante, “el abundante tejido adiposo marrón en el recién nacido tiene una razón, puesto que éste es capaz de funcionar como una

“La grasa marrón funciona como una especie de calefacción central para el recién nacido, manteniéndole caliente después del parto.”

especie de calefacción central que mantiene al feto caliente en el tiempo inmediato al parto”.

Tras el nacimiento, la hipotermia posnatal produce un estímulo en el sistema nervioso, que inerva el tejido debido a una activación de los receptores sensibles al frío situados en el hipotálamo y en la médula espinal. Este tejido es estimulado por la noradrenalina secretada por el sistema nervioso autónomo, que produce la hidrólisis aumentada de triglicéridos de los adipocitos. Posteriormente se oxidan los ácidos grasos con gran consumo de oxígeno y el calor producido calienta el torrente sanguíneo, que a su vez mantiene caliente al recién nacido.

En neonatos con retraso del crecimiento intrauterino con edad gestacional corta se observa hipoglicemia e hipoxia, viéndose también implicada la producción de calor. Se ocasiona así una inestabilidad térmica, que atenta contra el bienestar del neonato, puesto que no tiene el tejido adiposo marrón desarrollado. Los depósitos de energía de estos neonatos son muy bajos, puesto que el almacenamiento de ácidos grasos no es suficiente. Todo ello permite una disipación calórica, haciendo que el neonato resista el cambio de temperatura ambiental y la pérdida calórica superficial.

En este contexto, y detallando algo más la interrelación entre tejido graso y el proceso de termogénesis, la Dra. Barbara Cannon llamó la atención sobre la función que desempeña la proteína mitocondrial desacoplante, que “es esencial para la termogénesis inducida por la norepinefrina en los adipocitos marrones (en estudios experimentales con animales se ha comprobado que la eliminación de la UCP-1 en estos modelos se asocia



“ Mantener la activación del tejido adiposo marrón a lo largo de la vida podría proteger contra los efectos de la obesidad y la diabetes.”

con la ausencia de producción de calor). La UCP-1 es la única proteína capaz de mediar la producción de calor a través de un mecanismo denominado termogénesis no tiritante”. A modo de ejemplo, indicó que “si los humanos entramos en un ambiente muy frío, pronto empezaríamos a tiritar; en cambio, si nos mantuviésemos un par de semanas en ese mismo ambiente helado, lo más probable es que dejásemos de sufrir esos temblores, un efecto en el que tiene mucho que ver la grasa marrón”.

En ratones *wild-type* se ha comprobado la modificación de la grasa marrón motivada por el cambio drástico de temperatura. Tras una exposición a un ambiente caluroso (de 30°), los ratones pasaron a un entorno frío (con una temperatura de 4°). Su actividad muscular se intensificó y creció considerablemente, tiritando de manera ostensible; sin embargo, tras permanecer en este ambiente frío durante un par de semanas, desaparecieron por completo las tiritonas y decreció sustancialmente su actividad muscular, pero siguieron fabricando calor. Este efecto no se reprodujo en el caso de animales en los que no existe la proteína UCP-1: tiritan de frío cuando son trasladados a un entorno frío, pero también siguen con esa misma actividad muscular tres semanas después si se mantienen en ese ambiente, es decir, no pueden desarrollar ningún proceso de termogénesis al carecer de la proteína UCP-1. Por lo tanto, como subrayó la conferenciante, “actualmente se asume que una de las principales funciones de la grasa marrón es la estimulación de la termogénesis mediante la activación de la UCP-1, generando calor a partir de los ácidos grasos”.

En los humanos también se ha podido observar un fenómeno similar al detectado en modelos animales

en lo que respecta al proceso de termogénesis no tiritante. Se ha identificado la presencia de UCP-1 en acúmulos de grasa marrón humana, confirmándose su existencia en localizaciones muy precisas del cuerpo humano (cuello, mediastino y suprarrenal). Además, dos estudios recientes e independientes han comprobado que personas sometidas a un ambiente frío experimentan un distinto gasto energético dependiendo de su nivel de grasa marrón: aquellas que tienen tejido adiposo marrón gastan entre 200 y 400 calorías al día más, lo que supone un aumento del 10-20% en su metabolismo basal. Este efecto resulta tan importante que, según indicó la Dra. Cannon, “si las personas pudieran mantener en el tiempo esta tasa metabólica, sería probablemente suficiente para garantizarles un peso corporal adecuado”.

Al igual que los ratones, los humanos poseen el mecanismo de termogénesis no tiritante, disponiendo también de la capacidad para adaptarse al frío. Estudios recientes de Saito y Tsujisaki, llevados a cabo en población japonesa, han confirmado que la grasa marrón humana puede formarse: mientras que en verano la población mostraba una menor presencia de grasa marrón, durante el invierno se detectó, por medio de novedosas técnicas de imagen, un incremento significativo de tejido adiposo marrón. Así, un estímulo tan simple como un ambiente frío genera un impacto y pone en marcha el funcionamiento de esta grasa “buena” que consume calorías y adelgaza.

La siguiente cuestión es saber cómo emplear este mecanismo para reducir el riesgo de obesidad y de otras enfermedades asociadas. Y es que, como expuso la experta de la Universidad de Estocolmo, “tenemos una activación de la proteína UCP-1 que induce la producción de calor, llevándose cabo una combustión de la grasa. ¿Se imaginan lo bueno que sería quemar grasa o comida dentro de estos adipocitos marrones, convirtiendo esa comida en calor y no en grasa, gastándola y no almacenándola?”.



Si estamos en equilibrio energético, los alimentos que ingerimos se convierten en calor y no pasan a almacenarse como grasa; sin embargo, si comemos más de la energía que gastamos, existe el riesgo de que se acumule energía en forma de grasa. “Si dispusiésemos de un mecanismo de combustión de grasa adicional, que incrementase el gasto energético, quizá seríamos más eficientes a la hora de quemar la grasa sobrante y ésta no se acumularía en el organismo.” A juicio de la Dra. Cannon, “la termogénesis inducida por la dieta existe y está totalmente localizada en el tejido adiposo marrón”.

Consecuencias para la salud

Una de las consecuencias más importantes derivadas de una carencia de termogénesis inducida por el tejido adiposo marrón es el desarrollo de obesidad. “Si no tenemos UCP-1 y, por tanto, no se dispone de grasa marrón activa, se eleva el riesgo de acumular más grasa y, por consiguiente, de que se genere obesidad”, aclaró la Dra. Cannon, para quien “ya hay suficientes evidencias en animales y humanos que certifican esta hipótesis”.

En animales con UCP-1 (-/-), en comparación con los que son UCP-1 (+/+), se documenta un mayor incremento del peso corporal a pesar de haber seguido la misma dieta rica en grasas: sin grasa marrón, el ratón llega a ser más gordo. Esto se produce en condiciones ambientales y de temperatura confortables para estos animales. En síntesis, explicó la ponente, “los animales que no tienen UCP-1 y, por tanto, presentan un déficit de grasa marrón, son más proclives a engordar ingiriendo la misma dieta rica en grasas que aquellos con proteína UCP-1 (+/+). Por lo tanto, debemos concluir que la grasa marrón activa protege en cierta medida frente al riesgo de desarrollar obesidad”.

En la termogénesis, el tejido marrón utiliza, en primer lugar, los lípidos almacenados como sustrato para generar calor. Esta fase temprana de la termogénesis se corresponde con la liberación de noradrenalina del sistema nervioso simpático, activando la liberación de

ácidos grasos de las gotas de triglicéridos. Algunos de estos ácidos grasos activan la UCP-1, mientras que los ácidos grasos remanentes son importados a la mitocondria y allí se realiza la termogénesis, con la disipación de energía en forma de calor debido a la acción de UCP-1. Como el tejido graso marrón es un pequeño porcentaje del total del peso corporal, para mantener una termogénesis sostenida es necesario importar y quemar triglicéridos circulantes.

Recientes trabajos han demostrado que el tejido adiposo marrón, además de estar implicado en la termogénesis, podría tener un destacado papel en el metabolismo lipídico. En estudios de Bartelt y Heeren se ha investigado el efecto de la administración de partículas lipídicas marcadas radiactivamente en ratones mantenidos en un ambiente frío, observando cómo prácticamente la mitad de estas partículas penetraban en la grasa marrón, lo que sugiere que el tejido adiposo marrón protege frente a la hipertrigliceridemia.

Repercusiones en el síndrome metabólico

También se ha apuntado el posible efecto de la grasa marrón sobre el síndrome metabólico, considerándose que es un posible factor capaz de reducir el impacto de este síndrome en el que se conjugan trastornos tales como la obesidad, la hipertrigliceridemia y la hiperglucemia. Según la investigadora sueca, “la grasa marrón puede mejorar la obesidad, los triglicéridos y tal vez la hiperglucemia”.

Respecto al efecto de la grasa marrón sobre la disponibilidad de glucosa, estudios en ratones han puesto de manifiesto que la estimulación de la grasa marrón no sólo se asocia con una activación del proceso de termogénesis, sino que también se produce en paralelo una activación del proceso de absorción de glucosa. Se determina, por lo tanto, que la grasa marrón activa la destrucción de glucosa y, en determinadas circunstancias (aún no suficientemente esclarecidas), tiene un potencial enorme para absorber la glucosa de la sangre (un proce-



“La grasa marrón no sólo absorbe glucosa, sino también la grasa de la sangre, para quemarla y convertirla en calor.”

so de absorción que se realiza a partir de distintos transportadores de la glucosa, como GLUT-1 o GLUT-4). De hecho, indicó la Dra. Cannon, “la grasa marrón no sólo tiene la capacidad de absorber la glucosa, sino que también absorbe grasa de la sangre; es más, ahora sabemos que quema la glucosa y la grasa para convertirlas en calor”.

No menos relevantes son los hallazgos que se han obtenido cuando se administran en estos modelos animales partículas de glucosa radiactivamente marcadas. Se estima hasta una absorción del 75% de estas partículas por parte de la grasa marrón, mientras que la propia grasa marrón es capaz de absorber también hasta un 50% de las partículas lipídicas. “Esto es realmente sorprendente, sobre todo si se tiene en cuenta el escaso espacio que ocupa la grasa marrón en el ratón”, comentó la ponente. Se confirma que cuando la proteína UCP-1 está activada, se oxidan tanto los lípidos como los carbohidratos. También se ha evidenciado que los ratones que carecen de la proteína UCP-1 son menos sensibles a la insulina y registran una peor respuesta cuando se les somete a una prueba de sobrecarga de glucosa, así como que ratones con UCP (-/-) sometidos a una alimentación normal tienen una glucosa en ayunas superior a la que muestran los ratones con UCP (+/+). Por lo tanto, la grasa marrón es fundamental para la homeostasis de la glucosa, incluso en ratones normales (no hiperglucémicos y con dieta normal).

A partir de estos hallazgos, la Dra. Barbara Cannon dedujo que “la grasa marrón parece tener una cierta función antidiabética, pudiendo también proteger frente a la obesidad y frente a la hipertrigliceridemia”. En los

ratones, sentenció, “la grasa marrón tiene una función antisíndrome metabólico”.

¿Y en humanos?

Sin embargo, ahora el reto es tratar de trasladar estas evidencias a humanos y certificar su aplicabilidad clínica. Para la conferenciante, “estas observaciones son, en cierta medida, aplicables también en humanos”.

En colaboración con un grupo de investigadores italianos, liderados por Zingaretti, la Dra. Cannon ha tratado de descubrir si realmente la grasa marrón desempeña una función crucial en el desarrollo de la obesidad en humanos y, en concreto, si el déficit de este tejido adiposo realmente nos hace más propensos a sufrir esta enfermedad. Entre otros resultados, los autores de este trabajo han comunicado que, al comparar humanos con grasa marrón con otros que no tenían, se obtienen importantes diferencias en su densidad corporal, descubriéndose también una significativa correlación con la edad. Se determinó que la ausencia de grasa marrón puede causar obesidad y que este tipo de grasa se pierde con la edad.

Actualmente se acepta que la presencia de grasa marrón en adultos jóvenes es alta, pero su actividad es reducida porque se relaciona inversamente con el IMC y el porcentaje de grasa corporal, especialmente en las personas mayores. La señal para la activación de los adipocitos marrones es una temperatura inferior a la considerada neutra (34 °C para los ratones, 28 °C para las ratas y 20-22 °C para los humanos). La dieta podría activar del mismo modo el tejido adiposo marrón, responsable de la termogénesis inducida por los alimentos.

¿Qué es primero?

Pero ¿las personas están obesas porque tienen un déficit de grasa marrón o sufren una falta de grasa marrón porque están obesas? ¿O es posible que sea una conjunción de ambos factores?



Ante la imposibilidad de responder aún con total seguridad a estas dudas, Barbara quiso aportar una última idea sobre la cirugía bariátrica, planteando si sus efectos sobre la obesidad se deben a que con esta intervención se ejerce una activación (o reactivación) física o química (hormonal) de la grasa marrón. En cualquier caso, sentenció, “lo que sí hemos podido comprobar claramente es que tras una intervención de *bypass* gástrico, por ejemplo, un sujeto obeso sin prácticamente grasa marrón pasa a mostrar un aumento considerable de ésta (objetivado por medio de sofisticadas técnicas de imagen)”.

Como otro apunte de interés, la experta sueca reconoció que “actualmente la única evidencia funcional para una posible significación de la grasa marrón en humanos es genética”. Múltiples estudios han establecido asociaciones significativas entre polimorfismos del gen UCP-1 y alteraciones relacionadas con la obesidad, tales como la tendencia a la ganancia de peso con el tiempo (tanto en individuos normales como en los ya obesos).

El gen de la UCP-1 se encuentra localizado en el cromosoma 4 (*4q28-q31*). El papel de la termogénesis mediada por la UCP-1 en la obesidad en humanos no está claro, pero la presencia de la variante -3826 A/G en la región del promotor del gen de la UCP-1 se ha asociado con una reducción en la expresión del ARN mensajero de la UCP-1, una menor pérdida de peso en sujetos sometidos a una dieta hipocalórica y otras alteraciones metabólicas del fenotipo obeso. Por otro lado, se ha descrito una interacción entre el gen del receptor β 3-adrenérgico y el gen de la UCP-1 con respecto a la tasa metabólica basal. “Si tenemos suerte de haber recibido de nuestros progenitores la variante -3826 A/A en la región del promotor del gen de la UCP-1, expresaremos una mayor cantidad de esta proteína; en cambio, tendremos peor suerte si recibimos de nuestros padres el polimorfismo -3826 G/G”, afirmó la Dra. Cannon. Y es que, incluso, se ha demostrado que las personas

“La grasa marrón parece ejercer una función antidiabética, protegiendo frente a la obesidad y la hipertrigliceridemia.”

con A/A tiene un gasto energético más alto en reposo y también queman más grasa cuando consumen una dieta hipercalórica (en comparación con aquellas que expresan las variantes A/G y G/G).

Nuevos estudios llevados a cabo en Japón han concluido, además, que estas sustituciones genotípicas aceleran el descenso de la actividad de la grasa marrón relacionado con la edad y, por lo tanto, pueden asociarse con la acumulación de grasa visceral que se produce con el paso de los años.

Finalmente, un estudio recientemente publicado por un grupo de investigadores de la República Checa pone de manifiesto que las personas con genotipo A/A generalmente es más probable que se encuentren en el cuartil más bajo del IMC que aquellas con genotipo A/G o G/G; esto explicaría que aquellas personas con la variante A/A puedan comer más que las que tienen un G/G sin engordar tanto.

En base a todos estos estudios, la Dra. Barbara Cannon opinó que “la extrapolación de los datos obtenidos en ratones a los humanos nos lleva a pensar que la ausencia de grasa marrón en las personas es un factor causante de obesidad”.

Pero ¿por qué la perdemos con la edad? Los adultos jóvenes cuentan con una cierta cantidad de grasa marrón, realizan la combustión de gran parte del alimento que ingieren a través de este tejido adiposo y disponen de una pequeña cantidad de grasa blanca. Partiendo de esta realidad, la ponente afirmó que “la grasa marrón no sólo está regulada por el sistema nervioso simpático, sino que también se halla regulada de forma negativa por el cortisol y de manera positiva por las hormonas sexuales. Se sabe que las personas con síndrome de



Cushing experimentan un aumento de cortisol y registran una reducción significativa en la grasa marrón activa. A medida que envejecemos, los niveles de cortisol no cambian, pero disminuyen la hormonas sexuales: ésta podría ser la razón potencial por la que las personas, a medida que envejecen, sufren un descenso de la cantidad y actividad de grasa marrón”.

Como consejo final, concluyó la Dra. Cannon, “es preciso mantener la grasa marrón activa, algo que se puede conseguir con medidas tan simples como reducir la temperatura del dormitorio”. Y es que mantener la activación del tejido adiposo marrón a lo largo de la vida podría proteger contra los efectos de la obesidad y la diabetes. |

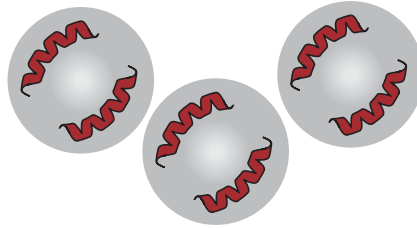
debate

Moderador:

Juan Carlos López

Mesa redonda:

Marc Y. Donath , Matthias Tschöp y Barbara Cannon





Debate



Los Dres. Donath, Tschöp y Cannon durante el debate.

Pregunta: Les felicito, creo que ha sido una sesión fantástica. Me gustaría empezar haciendo una pregunta sobre la grasa parda. La Dra. Cannon ha recomendado que se mantenga activa la grasa parda. Pero ¿cómo se hace eso?

Barbara Cannon: Sin duda, es fundamental mantener la grasa parda activa. La forma más fácil, sin necesidad de recurrir a la farmacoterapia o la cirugía bariátrica, es reducir la temperatura en el dormitorio, mantenerlo más fresquito, y esto probablemente ayudará: lo digo en serio, totalmente en serio.

Pregunta: Usted ha explorado el modelo de grupo muy interesante en la clínica, la persona metabólicamente sana pero obesa. En nuestra experiencia, este grupo de

pacientes supone aproximadamente un 25% de las personas obesas que atendemos. Les seguimos durante años y, de hecho, no suelen experimentar cambios importantes porque, aunque tienen síndrome metabólico, no tienen hipertrigliceridemia. ¿Qué hacer en estos casos?

Barbara Cannon: En relación con este obeso sano, yo no soy clínico y lo lamento, por lo que no puedo ofrecerle una respuesta clara. Sin duda, desde el punto de vista investigador, me fascinan esas personas, pero realmente no se muy bien qué podríamos hacer en estos casos y qué papel desempeña aquí la grasa marrón.

Pregunta: Otro modelo clínico espontáneo vendría configurado por aquellas personas que han

sido deportistas, como, por ejemplo, los luchadores de sumo. Se ha visto que cuando se jubilan siguen estando bien y se ha sugerido que esto podría tener algo que ver algo con el cambio en el tejido marrón adiposo, porque parece que originalmente no eran obesos pero se convirtieron en obesos.

Barbara Cannon: Sobre estos luchadores de sumo que dejan de hacer ejercicio, por supuesto se ha hablado mucho sobre esto en los últimos dos años. Se ha profundizado especialmente en lo relacionado con las proteínas y sobre qué hacen los músculos que segregan proteínas capaces de activar grasa blanca para que se conviertan en grasa marrón. Esto es, teóricamente, posible; sin embargo, yo dudo que tenga un efecto importante... Posiblemente



La diabetes tipo 2 generó una gran expectación.

estas personas sigan comiendo más sin hacer ejercicio, pero no tengo de información al respecto y tampoco existe una documentación consistente sobre este tema en la literatura.

Marc Donath: En cuanto al tema de los obesos sanos o saludables, yo creo que realmente lo que debemos tratar de responder es hasta qué punto es sano ser obeso. De todas formas, parece que estas personas obesas y aparentemente sanas sufren bastantes complicaciones, ya que suelen padecer más trastornos derivados de su peso corporal que los delgados. Estos obesos sanos puede que no tengan un riesgo significativamente superior de sufrir diabetes en comparación con los delgados, pero si miramos

otras complicaciones, la cosa cambia. Por lo tanto, yo en estos casos seguiría aconsejándoles que perdieran peso.

En otro orden de cosas, también quería hacer un apunte adicional sobre otro tema que ha surgido en este foro. Habitualmente asociamos la obesidad con la insulinoresistencia, pero debemos ser conscientes de que existe una gran heterogeneidad. En cualquier caso, sabemos que el tejido graso es la diana de la insulina y si se tiene más grasa sana o saludable, entonces esa persona es más insulinosensible y también es el activador del PPARgamma; pero a largo plazo hay un límite del sistema y, en un momento dado, la grasa aumenta y no parará de incremen-

tarse y entonces también se convertirá en malsana. Así que estas personas obesas sanas pueden tener una grasa buena durante un cierto tiempo, pero esto tiene un límite y puede cambiar radicalmente la situación en un determinado momento; además, también tendrán un fenotipo que no es tan saludable.

Comentario: En nuestra experiencia, recogida en un estudio prospectivo, el denominado estudio de Segovia, no hemos encontrado ninguna indicación de inflamación. Tenemos seguimientos con algún marcador, como la proteína C reactiva, y éstos no cambian a lo largo del tiempo; en estos momentos, el seguimiento es de unos 6-7 años. Igualmente, tampoco hemos conseguido asociar de forma directa la obesidad con algunos genes candidatos, no evidenciando ninguna relación significativa. Incluso, haciendo correcciones por cualquier factor de interés, como la dieta o el ejercicio físico, tampoco hallamos nada importante. Posiblemente esto es por no disponer aún de un seguimiento a muy largo plazo; de hecho, ni siquiera sabemos si también llegan a tener tantas complicaciones como aquellos que son metabólicamente insanos.

Pregunta: Quería saber algo más sobre el efecto de los agonistas beta-adrenérgicos que son antidiabéticos y antiobesos en roedores,

pero en humanos los estudios que se han hecho no son tantos ni tan concluyentes.

Barbara Cannon: Si uno es obeso, probablemente sólo tendrá una pequeña cantidad de grasa marrón y, por lo tanto, con el fin de hacer que ésta funcione, hay que tener más tejido y hacer que esté activo, que sea activo. Sabemos que, incluso en estudios con roedores, para obtener más tejido marrón hace falta una activación $\beta 1$ y no $\beta 3$, porque las células progenitoras solamente tienen receptores $\beta 1$; por lo tanto, $\beta 3$ solamente funcionará en aquellas personas que ya tienen grasa marrón. Si observamos determinados estudios de algunas compañías farmacéuticas, como Takeda, comprobamos que hay indicaciones de efectos positivos del agonista $\beta 3$, y éstos probablemente serían más significativos si se hubiese podido dividir a los pacientes en dos cohortes: el grupo de grasa marrón negativo y el grasa marrón positivo.

Puede ser que haya un potencial para este tipo de tratamiento. Pero también me preocupa que los estudios que ahora se están realizando con pacientes tratados con dosis normales del betabloqueante propanolol para eliminar la señal en el PET y así los radiólogos puedan ver las metástasis. Estas personas responden a una dosis normal de propanolol, lo cual indicaría, considerando la sensibilidad a $\beta 3$, una

falta de sensibilidad al propanolol. Todo esto demostraría que la grasa humana marrón puede ser que sea más activada por $\beta 1$ que por $\beta 3$. A menos que podamos mostrar una buena respuesta $\beta 3$, personalmente no creo que los agonistas beta-adrenérgicos sean una buena opción en este campo para los humanos. La clave, sin duda, es mantener la grasa marrón activa para no convertirnos en obesos.

Pregunta: En relación con tejido blanco que se va volviendo marrón, en estudios recientes se han dado algunas pistas sobre proteínas secretantes y la grasa marrón. ¿Qué opina de esto?

Barbara Cannon: Somos varios los grupos de investigadores que durante muchos años hemos buscado proteínas secretantes de grasa marrón; hay muchas blancas pero no tantas marrones. Desafortunadamente, no hemos encontrado nada que sea específico para la grasa marrón.

Pregunta: Si he comprendido bien, el Prof. Tschöp adscribe los efectos de GLP-1 de los conjugados agonistas a los receptores nucleares. ¿Puede usted descartar la posibilidad de que algunos de estos efectos estén mediados por el GPR30?

Matthias Tschöp: Es una pregunta muy buena. Los efectos mediados por estrógenos son un campo muy complejo en el que hemos hecho

una serie de experimentos con pérdida de función en modelos genéticos (por ejemplo, eliminando los receptores alfa y beta). Con estas pérdidas de función vemos menos beneficio del estrógeno en el GLP-1, pero nunca desaparece del todo. No hemos podido hacer un doble *knock-out* y no podemos hacer el *knock-out* para el GPRC1. De todos los datos que hemos visto hasta la fecha, podría deducir que, al menos, parece que hay un proceso de internalización y que esto ocurre dentro de las células, pero no tengo suficientes datos para realmente mostrarlo. Puede ser que el GPCR proporcione algún beneficio adicional.

Pregunta: Se ha hablado de diferentes tratamientos farmacológicos, e incluso quirúrgicos, para hacer frente a la obesidad y a la diabetes, y se ha subrayado el importante papel que desempeña la grasa marrón. Llevamos décadas buscando soluciones a estos problemas a través de la farmacología y, en cambio, contamos con sólidas evidencias, de tipo 1A y con eminentes fisiólogos, que certifican claramente que la clave de estos trastornos es la sarcopenia, es decir, la pérdida degenerativa de masa muscular y fuerza al envejecer o al llevar una vida sedentaria. Si no tenemos masa muscular, nunca seremos capaces de metabolizar las grasas y la glucosa como fuente de energía. En este



La sede de la Fundación Ramón Areces acogió la sexta conferencia de este ciclo.

contexto, ¿qué valor le conceden a la actividad muscular y al aumento de la masa muscular para actuar frente a estos problemas de salud?

Matthias Tschöp: Ninguno de los investigadores que participamos en este foro ha estudiado el músculo como forma de ganarse la vida, pero yo veo que los modelos que utilizamos, los animales que empleamos, no vienen generalmente con menos masa muscular, ganan más grasa pero no suelen perder masa muscular. Dicho esto, si se pierde masa muscular, esto desde luego no es bueno para el metabolismo global.

En cualquier caso, de lo poco que yo sé en este campo, diría que ésta no es la causa principal de la epidemia de la diabetes tipo 2; eso sí, aunque estoy seguro de que no es el factor determinante principal de esta epidemia, tampoco negaré su importancia. Básicamente, estoy de acuerdo con usted en que el mús-

culo es muy importante por varios motivos. En primer lugar, el músculo utiliza mucha energía y, desde luego, esto es algo que está estrechamente vinculado con la obesidad. Esto es algo especialmente importante si se tiene en cuenta que no sólo comemos demasiado, sino que también hacemos poco ejercicio. En nuestra clínica realizamos una importante intervención no solamente sobre la dieta, sino también en la promoción del ejercicio.

Pero, además, coincidiendo con usted, creo que aquí se abre un extenso y prometedor campo de investigación que surgió cuando se descubrió que la célula muscular produce citocinas. La primera que se describió es IL-6, una interleucina que ejerce múltiples funciones de interés en este campo, como estimular GLP-1. Es cierto, el músculo es importante y no lo estamos dejando de lado. Pero tengo que decir

que si estamos ante un paciente con 160 kilos de peso, entonces para ser eficaces vamos a necesitar otras cosas, como algunos de los fármacos que se han mostrado aquí.

Barbara Cannon: En este sentido, me gustaría insistir en la idea que ha comentado el Prof. Tschöp y es que los pacientes con diabetes tipo 2, al igual que nuestros ratones, no necesariamente tienen inicialmente, cuando se desarrolla la enfermedad, una masa muscular disminuida, sino que simplemente suelen mostrar una insulinosensibilidad reducida.

Pregunta: Quería preguntar sobre este cambio fisiológico sorprendente que se produce en la cantidad de tejido marrón durante el invierno. ¿Se sabe si es hiperplasia o es el tejido blanco que se vuelve marrón con la activación de las células madre?

Barbara Cannon: No tenemos evidencias al respecto en los hu-

manos, solamente disponemos de un único estudio con PET donde se ha observado la actividad de la grasa marrón, pero nada más. Basándome en los datos obtenidos en animales, sospecho que se trata de una hiperplasia combinada con una diferenciación aumentada de las células viejas y de las nuevas, pero no hay evidencia aún en los humanos de que esto sea así.

Pregunta: *Soy consciente de los beneficios de la cirugía bariátrica, pero me decepciona no poder conseguir en las personas los mismos resultados utilizando medios más fisiológicos. Incluso en España estamos registrando un importante aumento de la cirugía bariátrica en niños. Es más, como pediatra, me entristece comprobar diariamente el acusado incremento de la obesidad y el sedentarismo en los niños españoles.*

Matthias Tschöp: Comparto su decepción. Personalmente, tengo una experiencia muy parecida: he pasado 8 años de mi vida en Cincinnati, en Estados Unidos, donde no solamente hay una de las tasas de obesidad infantil más altas, sino que también cuenta con la triste fama de tener el mayor número de cirugías bariátricas hechas en niñas del mundo. Sin duda, éste no es el camino adecuado, es un error.

Nuestro laboratorio intenta entender y comprender por qué se

alcanza tanto grado de éxito con la cirugía bariátrica para, a partir de ahí, diseñar opciones de tratamiento menos traumáticas y más fisiológicas. Estamos convencidos que sus efectos beneficiosos sobre la obesidad no solamente se deben a que se hace más pequeño el estómago; hay algo que ocurre en cuanto a la señalización molecular que determina en gran parte el funcionamiento de este recurso y que también ayuda en el manejo de la diabetes. Por ello, queremos comprender mejor esto, para poder limitar estas intervenciones arriesgadas, invasivas y hacer algo que sea más farmacológico.

En un mundo ideal, sería fantástico no tener que dar ni pastillas ni administrar inyecciones para acabar con la diabetes y la obesidad, utilizando como arma simplemente la educación, una formación adecuada sobre el valor del ejercicio y de una nutrición saludable. Sin embargo, estamos lejos de este mundo idílico: la epidemia sigue adelante y no hemos visto ningún cambio importante durante las últimas dos décadas.

Pregunta: *¿Y a qué achaca principalmente este fracaso?*

Matthias Tschöp: Hay varias razones. Una de ellas tiene que ver con el hecho de que una vez que hay obesidad puede haber una reprogramación muy interesante. En este sentido, hicimos en nuestro labora-

torio un experimento con ratones, a los que convertimos en obesos y luego en delgados; los comparamos con algunos que nunca habían sido obesos y todo parecía igual. Sin embargo, a aquellos que tenían una historia previa de obesidad y a los que nunca habían sido obesos les sometimos a una dieta de tipo McDonalds, comprobando entonces que había un 100% más de ganancia de peso y más apetito en aquellos roedores que una vez ya fueron obesos. Por lo tanto, hay una especie de reprogramación, en el que pueden desempeñar un papel esencial ciertos mecanismos epigenéticos.

En definitiva, creo que debemos preocuparnos por el exceso de obesidad infantil, pero no debemos desanimarnos. Antes de abandonar y asumir que nos enfrentamos a un reto demasiado complicado, por lo menos hay que intentar llegar a una mejor medicina individualizada y a expandir una educación pública en la que se fomenten los correctos hábitos de vida.

Comentario: Sin duda, la dieta es crucial, incluso la de los padres.

Matthias Tschöp: Así es. Un artículo recientemente publicado en la revista *Cell* demuestra que la dieta a la que se expone la madre durante el embarazo y durante la lactancia importa muchísimo para los cachorros del ratón y repercute enormemente en su vida futura. Gran parte de esta influencia se debe a



ciertas interacciones entre algunos nutrientes y determinados genes, y donde desempeñan una función determinante las neuronas. Y es que se ha confirmado que las neuronas crecen de forma diferente en el cerebro, que es donde se regula el apetito, dependiendo de lo que ingiere la madre durante la gestación y la lactancia, todo lo cual tiene un gran impacto sobre la secreción de insulina en las crías. Es cierto que aún no entendemos totalmente todos estos mecanismos y que quizá no se produzca una situación idéntica en los humanos, pero son hallazgos que nos hacen reflexionar.

De lo que no cabe duda es que nos enfrentamos a un problema muy complejo y, por lo tanto, la solución no es solamente hacer más ejercicio y estar más saludable: tenemos una epidemia de obesidad y nuestra programación genética se ha visto ya afectada.

Juan Carlos López: Me gustaría aludir a un aspecto que no se ha abordado durante esta reunión y que guarda relación con el papel de la macrobiótica y el rol del microbioma. Hay muchas personas que están muy entusiasmadas con el hecho de que los genes que llevamos dentro de nuestro organismo no son nuestros, sino que son del microbioma. Se han hecho muchos estudios en los que, en-

tre otras cosas, se ha evidenciado que las bacterias de nuestro intestino contribuyen a la regulación del metabolismo de la glucosa. De hecho, muchos estudios demuestran que esta flora intestinal influye en la obesidad, las reacciones inflamatorias, el asma e, incluso, en el sistema nervioso. Es una idea tan buena y tan interesante que todo el mundo se está entusiasmando con este abordaje. ¿Qué les parece?

Matthias Tschöp: Personalmente no estoy entusiasmado con los datos que existen hasta el momento, ya que no me parecen muy concluyentes. Sinceramente, creo que es una moda que va a desaparecer.

Juan Carlos López: La microbiota es un campo nuevo en el que no se había reparado anteriormente. Desde una perspectiva terapéutica, hay diferentes formas de abordar esta cuestión; una es si existe una correlación entre diferentes tipos bacterianos y la incidencia de patologías como asma o colitis, y lo que se puede hacer es cambiar la flora intestinal con probióticos o trasplantes fecales, es decir, con tratamientos relativamente simples. Otro enfoque terapéutico se basa en que si entendemos cómo influyen las bacterias en el desarrollo de la enfermedad, todo llevará a identificar nuevas dianas terapéuticas que se pueden explotar para obtener nuevos tratamientos.

Este asunto es de interés porque no sólo afecta a cuestiones intestinales y metabólicas, sino también a problemas inmunológicos. Aquí se puede establecer una cierta relación entre diabetes y microbiota. La relación más fuerte se ha encontrado entre la flora intestinal y la obesidad, y ésta es un factor de riesgo para la diabetes. Por tanto, sí se puede establecer una relación entre el síndrome metabólico y la microbiota, aunque los mecanismos precisos por los que sucede esto no se conocen bien, y es un campo en el que muchos científicos están investigando.

Pregunta: En relación con la microbiota intestinal, algunos artículos muestran que una dieta alta en grasa reduce la microbiota intestinal y produce una endotoxemia metabólica, que es el inicio del proceso inflamatorio que puede llevar al desarrollo de diabetes tipo 2. A mi juicio, el eje cerebro-intestino no se limita sólo a las incretinas, sino que también hay otros elementos en la microflora que son muy complejos. Considero que es un campo de mucho interés y que sería necesario investigar estos aspectos. Por eso sugeriría que, junto con la medición de los marcadores proinflamatorios (como la PCR), estaría bien medir en

obesos la presencia de endotoxemia metabólica, cuya presencia se ha confirmado en el síndrome metabólico. Si se divide en cuartiles, se observa que cuantos más componentes haya de síndrome metabólico, mayor endotoxidad hay en la microflora, lo que estaría sugiriendo que la microbiota intestinal se ha descompuesto; y esto se produce incluso antes de que se desarrolle el proceso de inflamación. Estudios llevados a cabo recientemente en Francia han demostrado muy claramente en animales que existe una relación muy estrecha entre la endotoxemia y los marcadores de inflamación, y esto hay que tenerlo en cuenta también cuando se planifique el abordaje terapéutico.

Matthias Tschöp: Soy muy escéptico también sobre estas teorías, aunque reconozco que son muy intrigantes. No estoy en absoluto convencido de estas teorías basadas en las fugas gástricas intestinales que causan inflamación; me llamaron mucho la atención al principio, pero en los últimos cinco años no he visto datos que me hayan convencido.

Marc Donath: En cualquier caso, coincido en la trascendencia de las incretinas y por eso nos hemos interesado en el estudio de este campo. Hay muchos elementos implicados en la diabetes y el reto es conseguir identificar los agentes correctos y

desarrollar una prevención adecuada. Cada investigador tiene que tomar sus propias decisiones; yo puedo que cometa un error, pero insisto en que toda esta teoría de la microbiota se ha exagerado.

Cuando hablamos de la diabetes tipo 2, está claro que se trata de una enfermedad heterogénea y que resulta imposible saber con certeza cuál es la causa más importante que está detrás de este trastorno. En conjunto, no creo que haya una causa más importante que otra: en un paciente puede haber un factor más determinante, mientras que en otro el factor más sobresaliente puede ser otro distinto. Por eso, en algunos pacientes es posible que las endotoxinas desempeñen una función crucial, pero no en todos.

Juan Carlos López: *A modo de conclusiones, ¿cuáles serían sus mensajes finales?*

Marc Donath: Creo que todos estamos de acuerdo en que la solución de la diabetes tipo 2 debe proceder, primero, de la reducción de peso en los obesos y de la prevención. Y en ese objetivo estamos trabajando los investigadores presentes en este foro.

Matthias Tschöp: A pesar de las frustraciones de las últimas 2-3 décadas, donde ha sido complicado avanzar y se ha apreciado un aumento de esta epidemia, estamos haciendo

cosas muy interesantes y abordajes muy diferentes. Se ha progresado en el conocimiento de las bases inflamatorias y en los mecanismos inmunológicos. También somos conscientes de que nos enfrentamos a una enfermedad heterogénea, donde es necesario identificar los biomarcadores correctos para saber quién necesita qué. Aceptamos que es preciso individualizar los fármacos para que haya menos efectos secundarios, debiendo administrar el fármaco necesario a la persona más indicada. Esto es lo que tenemos que hacer en los próximos años.

Barbara Cannon: No ha sido posible abordar con mucho detalle en esta reunión un aspecto esencial: el hecho de por qué la gente se vuelve obesa. No es simplemente que hacen menos ejercicio; yo creo que ése es un aspecto demasiado trivial. Si embargo, es cierto que la dieta de la población, sobre todo en los países occidentales, ha cambiado sustancialmente en los últimos años. Ojalá pudiera prohibir la coca-cola, por ejemplo; ésa sería una buena forma de empezar, así como reducir el tamaño de las comidas.

Pero también es cierto que estamos ante un problema muy complejo, donde intervienen infinidad de factores intrínsecos y extrínsecos; así, incluso, hay investigadores para los que quizá la obesidad sea un problema vírico o para los



que los principales responsables del aumento de la epidemia son los conservantes que se les están añadiendo a los alimentos... Yo creo que hay muchos más factores que podrían tener un efecto impor-

tante; en concreto, personalmente me parece de enorme interés la función de la grasa marrón. Se abren grandes posibilidades con el análisis de lo que llamamos “grasa del ser humano maduro”, es decir,

cuando uno empieza a engordar en la madurez; sin embargo, no creo que esta línea de investigación vaya a darnos la solución definitiva en el tratamiento de la obesidad generalizada. |

presentation



Federico Mayor Zaragoza

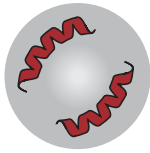
Chairman of the Scientific Council of
the Ramón Areces Foundation

José María Medina

Member of the Scientific Council of
the Ramón Areces Foundation

Javier Cazaña Aguilar

Managing Director of
Nature Publishing Group Iberoamérica



Presentation

This sixth annual meeting that we hold jointly with Nature Publishing Group Iberoamérica is extraordinarily important and is of great relevance to the Fundación Ramón Areces. As in the five previous editions, the selected topic, type 2 diabetes mellitus, represents a relevant and prevalent health problem.

Illnesses such as this one have been a constant motivation for our institution, which, from its origin and because of the will of Mr. Ramón Areces, has been devoted to promote scientific investigation, because knowledge should be applied to “mitigate or avoid human suffering”. Thus, many of the investments made by the Ramón Areces Foundation target biomedicine; there is no doubt that it is the most important chapter in the actions undertaken by this institution.

It is a source of great satisfaction for Ramón Areces Foundation to hold a new edition of this cycle of Conferences and Debates in Science because of its high scientific level and the great interest it generates due to the prestige and quality of the speakers. We want to thank both the speakers and the personnel of Nature Publishing Group, specially Dr. Juan Carlos López, editor of *Nature Medicine*, and Mr. Javier Cazaña, managing director of Nature Publishing Group Iberoamérica, for organizing this event and achieve its maximum diffusion.

Federico Mayor Zaragoza

Chairman of the Scientific Council of the Ramón Areces Foundation



In the fourth edition of the Cycle of Conferences and Debates in Science held in 2012, which addressed autoimmune diseases, professor Pickman from King's College gave an excellent paper on the molecular aetiology and new treatments of diabetes mellitus type 1. He summarised the main ideas recently published in a review by *Nature Medicine* on the new treatments that might be termed “self-vaccinations to overcome this disease”, targeted to eradicate this illness.

Both Ramón Areces Foundation and Nature Publishing Group Iberoamérica thought that we ought to extend and further our attention in this field, this time addressing diabetes mellitus type 2. The reason is simple: this disease is suffered by approximately 5% of the world's population, making it the most frequent metabolic disease in the world; this, plus the new denomination that includes diabetes and other disorders that make up the metabolic syndrome, allows us to consider that it is currently the most important disease from the social standpoint.

The idea was to benefit from the most excellent scientific and clinical approaches to type 2 diabetes, which is a substantially more benign disease than diabetes type 1, although it affects many more people and above all still poses many question marks, such as the fact that the disease's exact aetiology continues to elude us. Although great progress has been made in recent years in intestinal peptides and their role in insulin secretion, we are still a long way from knowing how the disease originates and develops, because it is a complex and multifactorial condition involving not only the pancreas, but also the central and peripheral tissues.

In this context, the symposium recaps on many of the breakthroughs already made, and ventures some clinical solutions that are of enormous interest and which are generating great expectations. The Fundación Ramón Areces and Nature Publishing Group Iberoamérica have made a huge effort to approach a totally current topic and one that is also of great sociological interest, for which purpose it has secured the help of speakers who enjoy worldwide prestige and are leaders in their respective fields of research. ■

José María Medina

Member of the Scientific Council of the Ramón Areces Foundation

According to the latest World Health Organisation (OMS) report, almost 10% of the adult population has diabetes, a disease determined by a concentration of fasting blood glucose equal to or greater than 126 mg/dl. The risk of heart diseases and cerebrovascular accidents are but some of the consequences derived from diabetes, as well as kidney failure, poor eyesight, blindness, amputation of the lower extremities and a long list of other conditions.

In recent years, the prevalence rate of diabetes in Europe has increased significantly, and in some countries the figure of 12% of the adult population with this disease has been surpassed.

Diabetes mellitus type 2 accounts for 90% of the total cases of diabetes in the world. It is a disease that can largely be prevented, since the risk of insulin resistance is increased by being overweight, lack of activity and by a high intake of saturated fats; however, its development is also associated with other factors such as ethnic group, socio-economic factors and early-life experience. The high prevalence and the percentage of the population with type 2 diabetes have made prevention and treatment one of the priorities of most of the world's health systems.

In this new edition of the cycle of conferences and debates, once again we are addressing a topic of great interest to science with a great impact on society due to the high level of incidence of this pathology. This is the sixth consecutive year that the agreement between the Fundación Ramón Areces and Nature Publishing Group Iberoamérica has made this event possible, featuring the participation of some of the world's most acclaimed experts in this field.

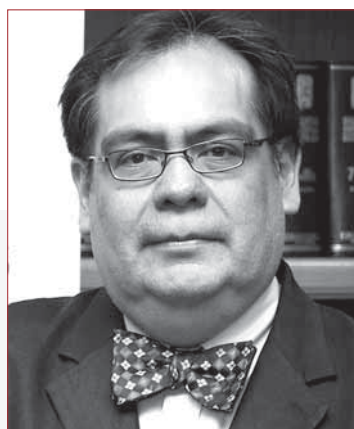
This time, professors Marc Donath, from the University Hospital of Basel, Matthias Tschöp, from the Technical University of Munich, and Barbara Cannon, from the University of Stockholm will be contributing their expertise. Finally, and due to unexpected weather problems, Dr. Pere Puigserver, professor of cell biology of the School of Medicine of the University of Harvard, Boston (USA), is unable to be with us.

Once again, the presentation is by Dr. Juan Carlos López, editor in chief of Nature Medicine, the journal with the greatest Impact Factor in its category.

As in previous years, I would like to thank the Fundación Ramón Areces, represented here by Drs. Federico Mayor Zaragoza and José María Medina, for their commitment to this collaboration agreement between both companies, likewise thanking the director, the communication team and the Foundation's whole Scientific Council for their highly successful work in organising these conference cycles. |

Javier Cazaña Aguilar
Managing Director of Nature Publishing Group Iberoamérica

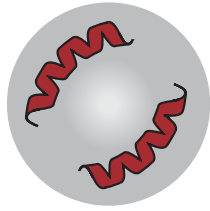
introduction



Juan Carlos López

Editor of *Nature Medicine*

He received his degree in biomedical research at the Universidad Nacional Autónoma de México and obtained his PhD in neurobiology and behaviour at Columbia University (New York), where he studied the cellular and molecular mechanisms of simple forms of memory in Eric Kandel's laboratory. Before entering the publishing world, Juan Carlos worked for the Instituto Cajal (CSIC, Madrid), studying the functional aspects of inhibitory neurotransmission. In November 1999 he was honoured with the "Estudi General" European Award for scientific dissemination, for his book *El Taller de la Memoria*. He is currently editor in chief of *Nature Medicine*, a post he had held previously at *Nature Reviews Neuroscience*.



Introduction

The field of diabetes is a very broad one, since different organs perform different functions in metabolic control. Not only do the pancreas and adipose tissue regulate metabolism, so too do the muscle, brain and liver perform crucial functions in this disease, hence a holistic vision of the metabolic syndrome is necessary.

Currently, 25% of the population above the age of 20 years has metabolic syndrome, although the mean age profile of these patients has diminished drastically in recent years. Will this trend be maintained in the future? Are current treatments effective? Are new therapeutic targets being investigated?

Many of these questions will be answered in the course of this meeting, which is analysing a very serious disease which nevertheless, from the intellectual standpoint, I regard as a very interesting problem. For a long time, the only thing that could be done with regard to diabetes was to act on very limited aspects and on specific disorders related to insulin resistance and the liver. We knew there were problems with fats, but did not know how these disorders affected the origin and the development of diabetes.

The last ten years have been crucial in understanding diabetes. We now know that the disease is much more complicated than we thought: the brain plays a crucial role, as does the muscle, and the immune system also seems to be very important; we also know a

“25% of the population above the age of 20 years has metabolic syndrome, although the mean age profile of these patients has diminished drastically in recent years”.

great deal more about the adipose tissue and how it contributes to diabetes and also how we can fight the disease. All these findings have been progressive and revolutionary, and it seems that every week we learn something more about the interaction between the different organs and how their dysfunction causes the pathology.

This is the good news, that we know increasingly more about diabetes mellitus type 2 (DM2). The bad news is that the more we learn, the more difficult it becomes to develop new therapies, because it is not easy to fight on all the fronts that cause this disorder or interfere in its development at the same time. We do not know if, when we attack a specific target, we are going to bring about an overall therapeutic effect.

Moreover, it is very difficult to achieve suitable disease control, since it is a chronic condition. Finding a safe treatment that can be taken on an everyday and



lifelong basis without triggering side effects is also complicated. This is why the approval of each new drug for diabetes is always subject to a great deal of pressure.

However, there is room for optimism, and even more so when this forum will benefit from the presence

of three international experts who are going to solve many of these problems. I am convinced that one day we will reach an efficacious and safe therapy for diabetes, largely thanks to the contribution of these three clinical investigators. ■

lectures



TARGETING INFLAMMATION IN THE TREATMENT OF TYPE 2 DIABETES

Marc Y. Donath

Professor and Head of Department of Endocrinology, Diabetes and Metabolism of the University Hospital of Basel, Switzerland



NOVEL THERAPIES FOR DIABETES AND OBESITY

Matthias Tschöp

Director of the Helmholtz Institute for Diabetes and Obesity, Chair of the Metabolic Diseases Department and Professor of Medicine of the Technical University of Munich, Germany

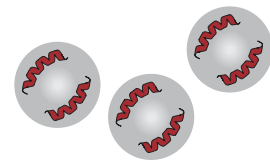


HUMAN BROWN FAT IS ON FIRE

Barbara Cannon

Professor of Physiology and Director of the Wenner-Gren Institute, University of Stockholm, Sweden





Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes

Marc Y. Donath

Professor and Head of Department of Endocrinology, Diabetes and Metabolism of the University Hospital of Basel, Switzerland

In recent years, significant progress has been made in the field of diabetes mellitus, a disease that affects millions of people all over the world and whose prevalence is growing exponentially.

New knowledge has been progressively accumulated in this area, much of it by now classic, albeit not yet fully applied in clinical practice. Thus, for example, for years we have known the basic function of β cells in diabetes mellitus type 2 (DM2); they are pancreatic cells located in the islets of Langerhans, which synthesise and secrete insulin, the hormone that controls blood glucose levels.

Dr. Marc Y. Donath summarised some key aspects for the development of new drugs for DM2 based on the modulation of inflammation and the immune system. This expert pioneered the therapeutic use of the inhibition of interleukin 1 (IL-1) in patients with DM2, and is the principal investigator in pivotal studies published in leading medical journals all over the world.

A dynamic disease

In DM2, there is a reduction in the action of insulin, with an alteration of the β cell's function, which is initially capable of responding with an increase in the production of insulin (hence its levels are high or normal with a view to offsetting the deficit of its action), although subsequently, if the disorder continues, the production of insulin will eventually be insufficient.

BIOGRAPHY OUTLINE

Professor and chief of the Department of Endocrinology, Diabetes and Metabolism at University Hospital Basel, Switzerland, Marc Y. Donath is a pioneer in the therapeutic use of IL-1 inhibition in patients with Type 2 diabetes and principal investigator



Marc Y. Donath

Together with the alteration of β cells, insulin resistance is another characteristic trait of diabetes. It is, as Dr. Donath defined it, “a process which means that with the same amount of glucose more insulin is required to produce tissue absorption”. For many years, insulin resistance was regarded as being synonymous with DM2.

Insulin resistance is a very common and widespread disorder affecting millions of people all over the world. There are multiple comorbid pathologies associated with this insulin disorder, such as obesity. Possibly, as the speaker estimated, “it would not be far-fetched to say that in a population such as Spain's, at least 50% of adults are insulin-resistant”. Although diabetes is a widespread disease, it does not reach these high prevalence rates. The reason lies, in the Swiss expert's opinion, “in the adaptation of the β cell that produces insulin, which was overlooked for many years”; and



“Determining the role of inflammasome is crucial to the development of suitable therapies against inflammatory processes”.

the fact is, he asserted, that “these cells have a tremendous capacity to adapt: they may increase their mass and insulin production, which in many cases makes it possible to overcome the problem of insulin resistance. If these cells fail to perform this crucial task, and instead of increasing their functionality and mass they die through apoptosis, this causes diabetes”.

DM2 is a progressive disease, with a distinct development that involves different stages ranging from pre-diabetes to established diabetes, when there is total dependence on exogenous insulin intake. The dynamism of diabetes is due fundamentally to the changes in the insulin producing-cells, whereas insulin resistance in the same individual is relatively constant over time.

Why do the insulin producing-cells fail?

In recent years, Dr. Marc Donath's work group has engaged in intense and extensive research, through numerous preclinical trials, focusing on finding the main reasons that would explain why the insulin producing-cells fail. This work has not only made it possible to go deeper into the analysis of these precipitating factors, but also to study the subsequent inflammatory effect of this cell failure.

The initial research focused on investigating how β cells fail, the finding being that nutrients may be directly involved in producing the death of these cells (by means of apoptosis). The next target was to understand why glucose induced apoptosis in β cells and why glucotoxicity was caused (if the β cell was exposed to high levels of glucose it ceased to produce insulin). The main observations yielded by this investigation

showed that the greater the exposure to glucose (in a situation of metabolic stress), the higher the production of the IL-1 β cytokine; in vivo functional tests finally ruled out the possibility of this effect being related to osmosis.

Initially, these findings were not accepted by part of the scientific community, since the latter was sceptical as to the possibility of a metabolic change producing an immunological phenomenon in the area of the pancreatic islets, the usual domain of diabetes 1, but not of DM2.

Despite this reticence, and as Dr. Donath explained, “we proceeded with this line of research and verified that not only were some cytokines involved in this process, but rather that this triggered a very important inflammatory process in the pancreatic islets”. The Langerhans islets of patients with DM2 were already known to contain the white areas, which are indicative of amyloid fibrosis, a disorder that may be interpreted as a chronic inflammatory process. In fact, this evidence should have given helped, according to the speaker, “to bring the hypothesis that M2 masked a chronic inflammatory process forward many years”.

In order to corroborate this idea, Dr. Donath's research group started up a study to evaluate, in the greatest possible detail, the possible existence of metabolic stress-induced chronic inflammation in the pancreatic islets. This led to the identification of the so-called inflammasome, a set of cytoplasmic proteins that was shown to be a good sensor for the immunological system with regard to important changes or metabolic stress situations.

The signalling of IL-1 is controlled by this inflammasome, which favours the maturation and secretion of proinflammatory cytokines such as IL-1 β and IL-18. The inflammasome related to cryopyrin, or NLRP3 (NLR family, pyrin domain containing 3) is the one that has been studied most to date. NLRP3 can be activated by different agents, such as pathogenic microor-



ganisms, extracellular ATP, silica, inhaled asbestos, stress factors, and exogenously through monosodium urate crystals.

These stimulus signals enter the monocytes and macrophages, activating the NLRP3, which is deployed and is assembled with other protein components of the inflammasome. This oligomerisation induces the cleavage of procaspase 1 to form active caspase 1, which in turn cleaves pro-IL-1 β to produce IL-1 β , which is released. IL-1 β is a proinflammatory cytokine that is produced mainly in the myeloid cells and has pleiotropic effects. Its synthesis and release are regulated by the IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra), an IL-1 β and IL-1 β antagonist. The binding of the IL-1 β to its type I receptor (IL-1RI) leads to intracellular signalling and to the transcription of other pro-inflammatory genes, hence down-regulation in the production of IL-1b has pathological consequences. IL-1 β acts as a mediator of peripheral immune response during infection and inflammation. The IL-1 β released from the cell gives rise to numerous inflammatory responses.

The definition of inflammasome, its structural and functional characteristics have made it possible to associate mutations in specific LRRK2 protein genes to human inflammatory disorders such as vitiligo (mutation in the *NPL1* gene), Muckle-Wells syndrome (mutation in the *NPL3* gene), Crohn's disease, gout or Alzheimer's disease.

The treatment of patients with some of these diseases with IL-1 receptor antagonists reverses clinical symptoms, suggesting a cause-effect relationship between the production of IL-1 β and the disease. Recently, evidence of a close relationship between the inflammasome and metabolic diseases such as obesity and DM2 has been found. "Determining the role of inflammasome in these diseases is of paramount importance in the development of suitable therapies and in understanding the mechanisms that modulate the inflammatory processes", said the speaker.

Clinical translation

In the event of a threat, the immunological system triggers a metabolic stress process that eventually causes an inflammatory disease. If this process becomes chronic, a vicious circle of "autoinjection" of IL-1 β is eventually generated. Once this inflammatory process has been initiated, and although there is a subsequent reduction in the metabolic stress that causes this alteration, it no longer stops and tends to become chronic. This is why, as Dr. Donath insisted, "we believe that DM2 is progressive, although the level of glucose eventually normalises, since once the inflammatory process has been initiated it continues, regardless of whether the level of glucose is regularised".

This perpetuation of the inflammation also involves the activation of numerous chemical changes (alteration of cytokines, chemokines, etc., that recruit macrophages and activate other immunological cells), aggravating even further the inflammatory load in the beta cells, the adipose tissue and throughout the organism.

Having observed glucose's capacity to induce the release of IL-1 β from the pancreatic islets and provoke the beginning of an inflammatory cascade, the following step was to try to translate this evidence to clinical practice in order to determine its real implications in diabetic patients.

Since IL-1 β has proinflammatory effects, it inhibits the function of the beta cells and promotes their death, it is postulated that its blockade could increase the production of insulin, improve sensitivity to the latter and reduce disease progression.

"In the event of a threat, the immunological system triggers a metabolic stress process that eventually causes an inflammatory disease".



On the basis of preclinical evidence and these hypotheses, the evaluation of the possible effect of a known drug used in rheumatoid arthritis on diabetes was addressed. Since high concentrations of glucose in patients with DM2 induce the production of IL-1 in pancreatic beta cells, impairing the secretion of insulin and reducing cell proliferation, the possibility of using anakinra (a recombinant antagonist of the human IL-1 receptor) to treat patients with DM2 was deemed acceptable.

A double-blind randomised clinical trial recruited 70 patients with DM2 (of a total of 312 contacted and 124 screened), who were given anakinra (100 mg sc every 24 hours for 13 weeks) or placebo. After 13 weeks, the level of glycosylated haemoglobin (HbA1c) was the same in both groups (8.37), but the reduction was even more substantial in the anakinra group (0.33; $p = 0.03$), since the baseline level was higher (8.7 versus 8.2). Baseline glycaemia was 1 mmol/l lower in the anakinra group, although as of week 4 the differences were reduced (0.5 mmol/l), albeit without statistical significance. Insulin resistance, serum adipokine and body mass index were similar in both groups. As Dr. Donath highlighted at this forum, “this was the first demonstration that a purely immunological intervention yielded an improvement in diabetes; we also subsequently demonstrated that this immune intervention not only improves insulin production, but also its quality (the process of evolution from proinsulin to insulin was also optimised)”. A significant reduction was also discovered in the level of C-reactive protein (a protein currently regarded as a “thermometer” of systemic inflammatory activity) and of IL-6 (another important inflammatory marker).

In a subsequent study (following up the previous one), the patients were treated for 3 months, the medication was then discontinued and patient evolution was followed up for a further 9 months. After this time period, a relevant improvement was maintained in

insulin secretion, as well as a reduction in glucose and systemic inflammation.

More recent studies have shown that the administration of a human IL-1 receptor antagonist to people in the pre-diabetic phase also yields benefits. In these cases of diabetes in the very early development phase, in which deteriorated insulin secretion is observed, this disease can be treated efficaciously, since the administration of the IL-1 β receptor antagonist significantly increases insulin secretion.

A study by Sloan-Lancaster et al confirmed that the LY2189102 antibody against IL-1 β is safe and well tolerated, yielding modest benefits in patients with DM2. The results of this phase II study suggest that the blockade of cytokine activity is a very promising adjuvant therapy for diabetes, although larger and longer tests are needed to establish this therapeutic option. More specifically, they studied this antibody, comparing it to placebo in a multicentre and randomised double-blind trial intended to determine its efficacy, safety and tolerability.

Between June 2009 and November 2010, a total of 106 patients with diabetes were assigned randomly to different treatment groups, receiving placebo subcutaneously once a week for 12 weeks, or one of the three doses of antibody (0.6, 18 or 180 mg). The primary objective was the change, from the beginning, of mean glucose concentration in plasma, measured by HbA1c, but the investigators also analysed fasting glucose, postprandial glycaemia and inflammatory biomarkers, as well as the safety and tolerability of each regimen given.

The primary objective was measured in the subgroup of patients (total of 79) that received at least 11 doses of the study drug or placebo. The investigators found that, in comparison with placebo, the dose of 0.6 mg of the drug was associated with a 0.27% fall in HbA1c after 12 weeks, while the dose of 18 mg produced a reduction of 0.38% and the dose of 180 mg caused a reduction of 0.25%.



“Although the level of glucose eventually normalises, the inflammatory process continues, because diabetes is a progressive disorder.”

The effect was partially reversed at the end of follow-up, 12 weeks after the end of the treatment. Fasting glucose diminished during treatment, but it was also recovered after the treatment. Moreover, postprandial glycaemia was significantly reduced at the end of the dosage of the antibody, but there was no longer a significant effect at the end of the 12 weeks of follow-up. Up to 52% of the patients that were given doses of 0.6 reached an HbA1c of less than 7, a goal that was only reached by 31% of the patients treated with doses of 18 mg and 26% of those who took a treatment with 180 mg. An increase in insulin secretion was also recorded with the use of LY2189102. The investigators observed a significant and rapid reduction in C-Reactive Protein at week 4, reaching an average reduction of 77% at the end of therapy and which persisted until the end of treatment. Sloan-Lancaster et al also observed apparent falls in IL-6, although this only reached significance in the 180 mg group at weeks 4 and 12.

As for the safety analysis, the antibody was well tolerated, with similar rates of adverse events emerging both in the placebo group and in the groups treated with LY2189102 (74.1 and 77.2%, respectively). The most common adverse events for all the combined doses of LY2189102 were headache, nasopharyngitis, arthralgia and diarrhoea. Five patients were lost to treatment due to adverse events, but the only three serious adverse events were regarded as not related to the study drug.

Summarising the main outcomes of this study, Dr. Donath indicated that “the weekly subcutaneous

administration of LY2189102 for 12 weeks was well tolerated, produced a modest reduction in HbA1c and fasting glucose, and was associated with significant antiinflammatory effects in patients with diabetes”. The study authors affirm that neutralisation of IL-1 β is a promising and convenient option for adjuvant treatment with DM2.

Canakinumab is a totally human anti-IL-1 β monoclonal antibody whose mechanism of action is based on the neutralisation of IL-1 β signalling, which leads to the suppression of inflammation in patients with autoimmune-origin disorders. By means of antigen-antibody binding, canakinumab inhibits the action of IL-1 β , avoiding its proinflammatory effects.

In patients with cryopyrin-associated periodic syndrome (CAPS), rheumatoid arthritis and DM2, canakinumab produces a rapid and sustained inhibition of the acute phase response that leads to substantial reductions in C-reactive protein (CRP) and IL-6. Moreover, this antibody only has marginal effects on lipid levels, and therefore provides a new method for directly testing the inflammatory hypothesis of atherothrombosis through the inhibition of inflammation.

At the moment it is being evaluated as a new possible targeted agent against IL-1 β , with a view to reducing the rate of cardiovascular events and recent-onset diabetes. In the CANTOS study, which aims to include more than 10,000 participants (although it had initially been designed to recruit about 17,000) and is scheduled to last longer than 4 years, the primary objective is to determine the impact of this treatment (50, 150 or 300 mg subcutaneous every three months in comparison with placebo) on cardiovascular events (determine the recurrence of major cardiovascular events, defined as non-fatal myocardial infarction, non-fatal stroke or cardiovascular death). As secondary objectives, the test aims to evaluate the effect of the treatment on the risk of appearance of new cases of diabetes (the parameter being whether the patient has normal or altered fasting



“Current control measures could be useful against these new transmissible viruses”.

glycaemia) or disease progression; the impact of therapy with canakinumab on total mortality in post-infarction patients and its relationship with vascular events will also be analysed, including hospitalisation due to unstable angina with the need for revascularisation.

Different paths, the same evidence

As Dr. Marc Donath highlighted during his conference, “findings similar to those obtained in this area by our work group have been found by different studies. We focused mainly on the field of pancreatic islets, but other scientists who have addressed different areas reached observations and conclusions very similar to our own with regard to the inflammatory component of diabetes”.

Other works focusing on the adipose tissue have evaluated the possible benefit of salsalate, a drug used to treat rheumatoid arthritis, capable of reducing blood glucose and of improving blood sugar control in DM2. Many of these works have been led by Steven Shoelson, who identified inflammation as a key factor in the development of DM2.

In an early phase (in 2010), different doses of salsalate were evaluated in a hundred participants with DM2 for 14 weeks. These results were tested again in a second stage, when almost 300 patients with DM2 were evaluated for 48 weeks. After this treatment period, the level of glycosylated haemoglobin was 37% less. Moreover, the patients that were given salsalate needed less additional medication to control their blood sugar than the patients that were not given it. It is therefore concluded that salsalate may play an important role in the treatment of diabetes and can also help us to unders-

tand more about how inflammation contributes to the development of DM2. Moreover, stressed the speaker, “these findings definitively corroborate the hypothesis that inflammation plays a crucial role in the pathogenesis of DM2”.

All in all, it has recently been demonstrated that the patients that used salsalate presented modest increases in cholesterol and albumin in urine, and had a slight increase in weight, which might indicate negative effects on the heart or the kidneys.

There is also promising evidence with tumour necrosis factor alpha antagonists (TNF α). Evidence obtained more than two decades ago already indicated the decisive role of TNF α in insulin-sensitivity, findings that were subsequently confirmed in animal studies. However, the possible repetition of the results in humans has been controversial, “above all because observations made in animal models cannot always be extrapolated to humans and also because the right experiment is not always performed in the most suitable population”, warned Dr. Donath.

Marc Donath's work group is designing an ambitious study (Inflacomb Study) to evaluate different treatment options for diabetes. The study includes up to 8 different regimens, with 6 months of treatment and 3 of follow-up: placebo; anti-TNF α ; anti-IL-1 β ; salsalate; salsalate + anti-TNF α ; salsalate + anti-IL-1 β ; anti-IL-1 β for 3 months and replace it with anti-TNF α ; triple therapy with salsalate+anti-IL-1 β for 3 months and then 3 months of treatment with salsalate + anti-TNF α .

The idea for this study, as the speaker said, “came from the solid and broad body of evidence we already have in this field”. Indeed, he added that “we already have numerous clinical examples that corroborate the involvement of these inflammation mediators in the development of multiple diseases”. More specifically, the positive effect of anti-TNF α has been confirmed in diabetes, psoriasis or colitis, as well as that of anti-IL-1 β in

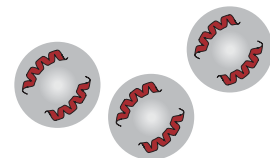


diabetes and gout, that of anti-TNF α or anti-IL-1 β in diabetes and rheumatoid arthritis, that of salsalate in diabetes and articular pain, and there has also been speculation as to a possible effect of anti-IL-1 β in diabetes and cardiovascular disease.

Wrapping up, Dr. Donath asserted that “there is a great deal of experimental evidence and emerging clinical findings that demonstrate the important role of inflammation in diabetes. This does not mean that inflammation is the only key to understanding and treating diabetes, although this inflammatory load does seem to be particularly important in some patients,

hence clinical management targeting this inflammatory process could be very useful”.

On a final note, the speaker presented one of his own clinical cases, a patient who came to this office with diabetes type 1 and who went on to develop Crohn’s disease. Due to this comorbidity, the decision was taken to begin treatment with a TNF α antagonist immediately (infliximab, a monoclonal antibody with a potent antiinflammatory action). The improvement in the autoimmune disease was rapid and efficacious, accompanied by a significant improvement in insulin secretion and insulin sensitivity. ■



Novel therapies for diabetes and obesity

Matthias Tschöp

Director of the Helmholtz Institute for Diabetes and Obesity, Chair of the Metabolic Diseases

Department and Professor of Medicine of the Technical University of Munich, Germany

One of the most promising basic and clinical research lines in diabetes mellitus type 2 (DM2) focuses on discovering new therapeutic targets that are capable of providing a more efficacious combined approach to this problem. This is a field in which Prof. Matthias Tschöp has excelled, and who showed at this meeting some of the most outstanding work conducted at his laboratory over the last seven years, based on an innovative approach. They have also tested a combination of three drugs targeting the adipocytes and the gastrointestinal system that has demonstrated unprecedented benefits in metabolic control and weight control in diabetes and obesity models. Moreover, their combination of a peptide and steroid has been capable of reversing the main symptoms of metabolic syndrome without causing adverse effects or toxicity induced by the use of estrogens. This heralds an enormous advance in multiple drug therapy for the treatment of metabolic diseases such as diabetes and obesity.

From leptin to the new findings

With the now classic works by Friedman et al., who identified leptin and its implications in obesity and diabetes, a new approach was undertaken in the study of and approach to these health problems.

Leptin is a hormone produced by fat that acts on the brain's hypothalamus to regulate food intake, energy expenditure and the amount of fat accumulated in the

BIOGRAPHY OUTLINE

Dr. Tschöp received his MD from Ludwig-Maximilians University in Munich, Germany, in 1994. He currently leads the NEON laboratory for pre-clinical obesity research at the University of Cincinnati. In parallel, he is head of a study group at the Department of Pharmacology of the Institute of Human Nutrition in Potsdam (DIfE), Germany.



Matthias Tschöp

organism; it has also been demonstrated that the lack of this substance or of its receptor (the biochemical area that receives it in the brain) leads to obesity. The discovery of this mechanism, identified in mice and human beings, has opened up new channels of investigation into the biological foundations of obesity and brought about an important change of paradigm, by demonstrating that excess weight is not due exclusively to unsuitable behaviour but rather that it is the consequence of an imbalance in a hormonally regulated process.

This scientific landmark was discovered by the Canadian-North American chemist Douglas Coleman and the North-American Jeffrey Friedman, who was tasked with demonstrating the Coleman's scientific hypotheses were correct. At the end of the 1970s, Coleman had suggested that there had to be a hormone, unknown at



“Obesity is not due exclusively to unsuitable food habits, as it can also be the consequence of hormone imbalance.”

that time, that regulated food intake and body weight. By means of tests with laboratory mice that carried a mutation that made them extremely obese, it was suggested that this defect was located in a single gene. In 1994, Friedman identified the gene of the hormone leptin, which functions as Coleman had predicted. It was thus confirmed that this hormone is designed to control body weight; it circulates in the blood and acts on the brain centres that regulate appetite.

These findings prompted Prof. Matthias Tschöp's team to go deeper into this field, and they found a hormone that acts as an endogenous opponent of leptin: ghrelin. Ghrelin is a peptide hormone secreted mainly by the stomach that the body uses to stimulate hunger and increase food intake. Ghrelin normally rises before a meal and falls shortly after the nutrients begin to be absorbed by the body. As the intake of food and fatty mass in a diet increases, ghrelin levels increase, fat loss diminishes and the risk of recovering weight increases. As the German expert summarised, “this hormone, which also acts on the central nervous system, is associated with body weight, appetite and hunger, it has effects on glucose metabolism and, in a few words, does exactly the opposite to what leptin does.”

This new information on leptin and ghrelin opened up the possibility of addressing new therapeutic strategies in endocrine weight control and in glucose metabolism. The modulation of the function of these hormones (delivering more leptin and/or blocking ghrelin) has made it possible to examine new options for tackling metabolic syndrome and DM2.

However, the initial results obtained in humans were disappointing. As Prof. Tschöp recalled, “obese insulin-

resistant humans who were type 2 diabetics were resistant to leptin, and the blockade of ghrelin was very complex in these cases.” This, he continued to explain, “led us to think that there were other actors involved in this process, which encouraged us to consider the role of the PYY peptide”. Ghrelin is closely related to the PYY hormone, with both of them acting on the same nerves of the hypothalamus.

In healthy subjects, high levels of ghrelin have been detected in wakefulness statuses; however, people with anorexia nervosa, a reduction in the diet or bariatric surgery also present elevations of this enzyme. Ghrelin is related to obesity, since it functions as a regulator of other orexigenic enzymes such as the neuropeptide Y, which suggests that a decompensation in the production of ghrelin or in the receptors located in the arcuate nucleus of the hypothalamus could predispose to weight gain. The common purpose of all these enzymes is the homeostasis of the gut-brain axis, regulating food intake directly and indirectly, body weight reduction or gain, energy expenditure and the digestion of the different macromolecule from foods, which suggests that changes in the synthesis of these enzymes and the expression of their respective receptors at central nervous system level may predispose individuals to be overweight or obese.

Learning with bariatric surgery

In view of the difficulties in finding the determining factor for interfering satisfactorily in obesity and diabetes, Prof. Tschöp's work group focused on one of the few interventions that is nowadays associated with good outcomes in morbid obesity and serious insulin resistance: bariatric surgery. “We knew that bariatric surgery and gastric bypass or the placement of a gastric band have an immediate impact on glucose and lipid metabolism, even long before patients have begun to lose body weight. Patients undergoing this type of surgery tend to present such significant and positive changes in gluco-



se metabolism that they are capable of dropping out of their insulin treatment”, said the speaker. In his opinion, and although the details of the intrinsic mechanisms involved in this phenomenon are as yet unknown, “endocrine and neuroendocrine signalling appear to have an essential function in these effects caused by bariatric surgery.” Therefore, he added, “our objective was to generate a less aggressive therapeutic resource than bariatric surgery but which would actually trick the brain and lead it to believe that the stomach had undergone this type of operation.”

To this end, they began to design and develop a less traumatic intervention than bariatric surgery. Scientists from the University of Cincinnati and the Helmholtz Institute of Munich studied the concentration of intestinal glucose-like protein-1 (GLP-1) in a model of rodents with diet-induced obesity.

Active and total GLP-1 were measured by means of an electrochemiluminescence study. Following the gastric bypass surgery, the concentration of intestinal GLP-1 rose significantly in blood. GLP-1 increases insulin secretion and contributes to improving the levels of glucose and lipids in blood. In the study with rodents, the response of the GLP-1 varied considerably with regard to glucose metabolism and, what is more important, it transpired that the more sensitive the animals were to GLP-1 the greater the efficacy of gastric bypass was in improving glucose metabolism.

The authors conclude their study by stating that the GLP-1 system can offer an untapped potential and may become a new biomarker for personalised methods in the treatment of DM2 and obesity, recommending the implementation of clinical trials in obese patients and with DM2 to test whether this novel biomarker has the same, or even greater promise, in human beings and may be used to predict benefits as well as to avoid the unnecessary risks of bariatric surgery.

Following this line of work, it has also been demonstrated that the combination of gastric band placement

“Leptin and ghrelin have opposite effects on glucose metabolism, body weight, appetite and hunger.”

surgery and GLP-1 is associated with a greater reduction in body weight compared to the sole use of the gastric band (and similar to that which is achieved with bypass). According to the speaker, “although for obvious reasons this type of experiment could not be performed in human beings, it did help us to demonstrate the benefits that could be offered by combining several key hormones (such as GLP-1 or glucagon) that act on the brain, pancreas and/or the stomach; this therapeutic strategy could be associated with results similar to those obtained with surgery and might therefore spare us these more aggressive operations.”

On the basis of this work, and in collaboration with the chemist Richard DiMarchi, Matthias Tschöp’s research group took yet another step in this field, “with the ultimate goal of incorporating the different signals identified, including them in a molecule which could target different pathways at the same time, thus obtaining a more efficacious and safer treatment for diabetes.”

By way of clarification, the speaker stated that although glucagon increases glucose production, it is still one of the main glycaemia-increasing hormones in the body, “it is also true that it promotes lipolysis or thermogenesis (it helps to burn calories).” This is why they thought about the possibility of selecting only that function of glucagon for burning calories and, in combination with the positive actions derived from GLP-1 (it promotes insulin secretion, the sensation of satiety...), create a single molecule, a “superhormone” that would simultaneously generate all the beneficial effects required: break down fat, reduce the sensation of hunger and improve glucose metabolism, imitating all the advantages offered by bariatric surgery.



“The objective of combined therapies to trick the brain and lead it to believe that the stomach had undergone a bariatric surgery, avoiding this more aggressive operation”.

Based on the idea that the metabolism and homeostasis of glucose are controlled mainly by the pancreatic hormones, insulin and glucagon, different medicinal products have been designed targeting the modulation of the actions of glucagon at the level of their receptor. The identification of glucagon as a hormone capable of regulating insulin has promoted the study of other effects derived from glucagon agonism, such as its role in lipid metabolism, energy balance, body adipose tissue mass or food intake. Glucagon's capacity to stimulate energy expenditure, together with its lipid-lowering and satiating effects, make this hormone an attractive pharmacological target. Its combination with GLP-1 has confirmed the benefit that can be accomplished, for example in the treatment of metabolic syndrome.

The treatment was based initially on the identification of important similarities in the chemical structure of the GLP-1 and the gastric inhibitory peptide (GIP), hormones formed by the digestive apparatus and which control food intake and numerous metabolic processes. These similarities suggested the possibility of creating a single molecule. Scientists from the Helmholtz Institute and the Technical University of Munich, in collaboration with Richard DiMarchi of the University of Indiana and other experts from the University of Cincinnati, successfully developed a molecular structure that combined the effects of the two hormones.

This new molecule simultaneously stimulates two receptors (GLP-1 and GIP) and therefore maximises metabolic effects versus the separate use of each one of the gut

hormones. The GLP-1/GIP co-agonists discovered induce an important improvement in blood sugar levels and cause a significant weight reduction, as well as a reduction in blood fat. The investigators observed that the new substance greatly improves metabolism in human beings, as well as having other positive effects. At the same time, this therapeutic approach is associated with fewer adverse effects (fewer gastrointestinal adverse effects) in comparison with each hormone used separately.

Works led by John Day evaluated the effect of the selection of the co-agonists glucagon/GLP-1R on the treatment of metabolic syndrome. They thus reported the efficacy of a new peptide with agonism for glucagon and the GLP-1 receptors which has potent lipolytic effects and induces maintained satiety. The selective chemical modification of glucagon has permitted a loss of specificity with minimal changes in its inherent activity. As this work shows, the structural basis for this co-agonism seems to be a combination of local positional interactions and a change in the secondary structure.

Two co-agonist peptides that differ only in their level of agonism of the glucagon receptor were studied in experimental mouse obesity models. Pegylated peptides were given once weekly, achieving normalisation of adiposity and glucose tolerance in obese mice (fattened by means of a fat-rich diet). The reduction in body weight was achieved through body fat loss caused by the reduction in food intake and increased energy expenditure. Different treatment alternatives with this peptide were tested in the study, with different proportions of glucagon and GLP-1R. As Prof. Tschöp highlighted, “it proved particularly spectacular to see how in only one month these obese mice on this treatment with glucagon/GLP-1R lost weight at a proportion similar to that which is documented with bariatric surgery. Moreover, we found that weight reduction was greater when the peptide contained a greater amount of glucagon.”

Apart from the evident and significant weight loss, the experiments show that insulin levels are reduced and



glucose tolerance is improved. The long-term effects of the glucagon/GLP-1R co-agonists are currently being studied in rat models.

An evaluation has also been made of what would happen if the GLP-1 receptor's agonism was eliminated from this double agonist, it transpiring that some of the benefits observed are maintained. It may therefore be concluded that the glucagon receptor's agonism also achieves major reductions in fatty mass, albeit lower than those obtained when the agonism of the GLP-1 receptor and of the GLP-1R are used jointly.

Approaching clinical practice

On the basis of the promising findings obtained, a further step has been taken in this new strategy for the treatment of obesity and DM2 based on the combination of gut hormones with a direct effect on the brain.

The idea was to ascertain the possible effect that would be obtained through the combination of two incretins, in the knowledge that the pharmacological effects of GIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide) are complementary to those obtained with GLP-1. Here, the aim was to further our knowledge of the effects that could be achieved with the combination of two hormones that are capable of stimulating insulin secretion or of interfering satisfactorily in the biosynthesis of insulin, the proliferation of beta cells or the actual survival of the beta cells.

Incretins are gut hormones that participate in the homeostasis of glycaemia and are released into the blood stream after food intake, regulating the insulin and glucagon secretion in glucose-dependent fashion (the increase in insulin and reduction in glucagon reduce the hepatic production of glucose). Moreover, they are insulin-secreting agents that have an interesting mechanism of action for the treatment of patients with DM2 in combination with oral antidiabetics or insulin, and their efficacy in reducing hyperglycaemia in these patients has been amply demonstrated. The relationship between

these substances and the endocrine secretion of the pancreas (which produces insulin) was described back in 1932, when the term "incretin" (acronym of *intestinal secretion of insulin*) was used, and the term "incretin effect" was coined in 1964.

Located in the intestine, the incretins participate in the release of the insulin produced after eating, and in recent years they have become one of the most promising pharmacological targets for the development of new antidiabetics. The problem is that the drugs developed hitherto are not very effective if they are not given in large doses, which can cause side effects (such as nausea).

To solve this, a molecule that activates both receptors (GLP-1 and GIP) instead of stimulating only the receptor of one of the incretins was designed. A new model that included both peptide hormones was created, as they are both fundamental in the body's regulation of the metabolism. The findings demonstrate that when GLP-1 and GIP are combined in a single molecule they produce a synergy capable of controlling glucose and reducing body weight in animal models.

According to the authors of these studies, led by Brian Finan, combining these two physiological hormones is a unique and beneficial approach for the treatment of the so-called metabolic syndrome, and constitutes an important step forward in the search for more efficacious therapeutic alternatives. In the speaker's opinion, "the key to the innovation lies in having a molecule that delivers the best of both incretins (GLP and GIP); it is not merely a question of mixing both hormones and binding them in a single molecule, because there is a sophisticated and refined chemistry at work that allows us to enhance their synergy."

After testing the new compound in obese rodents and monkeys with DM2, which showed that the treatment achieved a maintained reduction in body weight and an improvement in the animals' blood glucose (in comparison with liraglutide), a small study in human beings was initiated. They designed a clinical trial and tested the



product in 53 obese patients with DM2 over a 6-week period. The results demonstrated that the treated patients secreted more insulin, but that they also presented better glucose levels and had greater weight loss in comparison with the patients not treated with this molecule; they also found that the single-molecule GIP-GLP treatment improves HbA1c in humans dose-dependently. Nevertheless, the investigators acknowledge that the data after 6 weeks are not significant enough to provide definitive evidence of obesity control in human beings.

Another positive aspect of the clinical trial is that neither were side effects observed, above all due to the drug's pharmacokinetic enhancement. Its pegylation promotes a reduction in dosage frequency, and peak exposure to the drug is diminished, and, in combination with less drug dependence mediated by GLP-1, the gastrointestinal adverse effects characterised by the GLP-1 agonists are averted. Moreover, the molecule's greater potency suggests that it could be given at lower doses than the incretins initially developed, thus reducing side effects (such as nausea and vomiting).

The single-molecule dual incretins correct two causal mechanisms of diabetes and obesity, namely obesity-induced insulin resistance and pancreatic insulin deficiency, and do so with greater efficacy than the selective single-agonist agents. As was summarised by Prof. Matthias Tschöp, "the dual action of these drugs presents a promising approach to diabetes, since these molecules achieve effective control of glucose in human beings and also promote weight loss."

From double to triple therapy

Continuing in this research line, and following the concept of using endogenous hormones and combining agonism to more than one receptor in a single peptide (including a pathway capable of reducing food intake and another one that targets increasing energy expenditure), the effect derived from a triple-acting agonist pep-

tide including three components was evaluated recently: GLP, glucagon and GIP. Using the animal model of mice based on a diet rich in calories and sugar, it was observed that the triple-acting agonist peptide offers differential advantages over the subcutaneous injections of the co-agonist approach.

These works demonstrate that when a single molecule that acts on the three pathways at the same time is given, it yields marked weight loss, reaching, once again, a highly similar effect to that which is achieved through bariatric surgery. As the speaker graphically summarised, "while we have yet to understand other important factors, generally speaking it appears that the beneficial effects of gastric surgery can also be achieved by including a triple-agonist therapy in a syringe"; in his opinion, it seems that we have managed to unravel a part of the key molecular aspects involved in surgery and put them in a drug.

Adding estrogens

The possibility of combining another two components in a single molecule has also been successfully tested: a peptide with metabolic benefits and a steroid that also delivers other additional positive metabolic effects. Works by Richard DiMarchi and Matthias Tschöp have demonstrated that the estrogen, a female hormone, may be manipulated to be more efficacious in the treatment of obesity and diabetes. The initial hypothesis was that the combination of the estrogen with a glucagon-like peptide-1 (GLP-1) would make it possible to create a single molecule with fewer side effects.

The rationale of this combination is clear. GLP-1 is a digestive system peptide hormone used in drugs to treat DM2, drugs that improve blood glucose control and can lead to weight loss, although not enough to be used as medicinal products for weight loss.

Similarly, estrogen is another hormone that can cause weight loss by regulating some of the brain's receptors. It



is also a hormone with essential actions in different areas of the body: in the hypothalamus, an increase in energy expenditure and reduction in food intake; in the liver, an increase in insulin sensitivity, a reduction in lithogenesis and in the production of glucose; in the adipose tissue, a reduction in lithogenesis and in the accumulation of triglycerides; and in the pancreatic islets, a reduction in the apoptosis of β cells, an increase in the survival of β cells, an increase in insulin secretion and production. However, it is also true that its effect may be harmful in other sites: for example in the breast tissue and in the uterus, the estrogens induce an increase in oncogenic potential. These possible side effects related to the increased risk of cancer, particularly breast and ovary, limit their use in reducing weight and/or in fighting diabetes.

For this reason, the possibility of including these estrogens in a GLP-1 was addressed, carrying them to the pancreas but without reaching the other sites where the accumulation of estrogens is potentially oncogenic; in a nutshell, the idea was to carry powerful nuclear hormones to specific tissues without affecting the rest.

More specifically, a peptide capable of binding reversibly to the estrogen was designed, combining GLP-1 with estrogen conjugates, which was given to obese laboratory mice. The use of natural gut peptides targeting the cell membrane receptors, including small peptides, made it possible to reach the exact site where their specific peptide receptor is expressed on the cell's surface. Elaborating on some of the details pertaining to how the combination works, the German scientist explained "the theory of selective release": a chemically stable conjugate was synthesised, namely a GLP-1 hormone loaded with estrogen (GLP-1 + β -estradiol-3-ether), aimed exclusively at the target cells; once there, this molecule binds to the membrane receptor, it is internalised and is broken down in the cells, it activates the core receptor and begins to deploy its effect. In the case of the uterus and the breast, in the absence of

GLP-1 receptors, this chemical binding at these sites will not take place and the estrogen effect will therefore not be triggered.

The authors of the research found, in the mice analysed, that the combination was more efficacious than using any of the compounds separately. Treatment with stable GLP-1/E2 (estradiol) significantly increases the effects of GLP-1; in fact, the use of stable GLP-1 + estrogen (400 $\mu\text{g/kg/day}$) is the regimen that is associated with a greater reduction in body weight, with statistically significant differences established with regard to the rest of the options evaluated (low and high doses of GLP-1 agonist, fragile GLP-1 + estrogen at low or high doses...).

GLP-1 acts as a kind of guide for the estrogen, carrying it to the hypothalamus and to the pancreas to be metabolised. However, and moreover, the highly precise cooperation between the peptide and the hormone, combined in a single molecule, reduces the probability of the estrogen developing tumour growth or cancer. For example, it has been confirmed that the use of stable GLP-1/E2 avoids uterotrophic actions and does not have an oncogenic effect on the breast tissue.

"This constitutes a major breakthrough, since two benefits are obtained, weight loss and the administration of glucose without the toxicities associated with estrogens, maximising the metabolic benefits and minimising potential toxicity thanks to the fact that the molecule specifically targets a subgroup of estrogen receptors in the GLP-1 receptor carrier cells", asserted Prof. Tschöp at this forum.

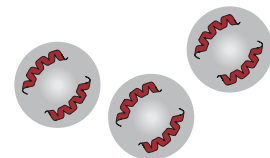
The next step, as this expert says, "would be to test other combinations of peptide hormones and steroids with a view to discovering new treatments for more diseases, although for the moment further exhaustive research to verify safety has not been ruled out."

All these works have made it possible to conceive a new class of drugs capable of releasing steroids and small molecules by means of "turbocharged" hormone



hybrids through specifically targeted membrane receptors. “Now we can consider the development of drugs that act on a specific target, without interfering in other areas which, for different reasons, we do not want to modify”, said the speaker, who also referred to other work

that has just been initiated to develop this concept. For example, they are currently evaluating the effect obtained on adding a glucocorticoid to a GLP-1 with a view to efficaciously acting upon the inflammatory cascade present in diabetes. ■



Human brown fat is on fire

Barbara Cannon

Professor of Physiology and Director of the Wenner-Gren Institute, University of Stockholm, Sweden

The discovery of brown fat and subsequent works that have led to the definition of its functions, as well as its supposed capacity to prevent and attack obesity, constitute a new incentive in the fight against diabetes and obesity. The impact of this discovery and its importance are such, that at this very meeting, Dr. Barbara Cannon asserted that “brown adipose tissue is now acknowledged as a new organ in human beings. In this regard, it is as if we were now living in the Middle Ages and said that we had discovered a new organ, the heart, and that it worked like a pump”.

In recent years, it has been discovered that brown fat not only keeps the human organism warm, but that it plays a crucial role on “burning” surplus energy, thus offsetting the effects of metabolic syndrome, for which there is no other mechanism. This function is now being investigated to be able to leverage it in the development of new drugs.

A before and after

Before 2007, brown adipose tissue had only been detected in newborns. Its existence was subsequently identified in adults, a finding that could constitute the basis for a treatment for obesity in the near future if the definitive way of increasing the activity of this fat is found. Brown adipose tissue may be metabolically important in human beings, and the fact that it is reduced, although still present in the majority of overweight or obese patients, may be fundamental in the treatment of obesity.

BIOGRAPHY OUTLINE

Trained in biochemistry at London University, Barbara Cannon took a PhD in physiology at Stockholm University and, after postdoctoral training in Ottawa, has been professor of physiology in Stockholm since 1983. She has been dean of the



Barbara Cannon

subfaculty of biology at Stockholm University, vice president of the Royal Swedish Academy of Sciences and chairman of the Trustees of the Nobel Foundation. Currently she is the director of the Wenner-Gren Institute.

Brown fat is a tissue that uses energy to increase body temperature. It is a special type of fat with a large concentration of mitochondria (they are dark, hence this tissue’s brown colour) that burns energy to deliver it to the organism in order to raise the body’s temperature when it is cold. As Dr. Barbara Cannon explained, “the main function of brown fat is to produce heat, either to regulate heat or to regulate energy balance”.

Until fairly recently, its existence in mice and children was known, and it had been documented that newborns presented a considerable amount of brown fat. However, it was thought that this tissue did not exist in adults or that it was inactive.

Brown fat in adults too

Recent independent works have shown that this tissue is also present in adults in different amounts and with



different degrees of activity. These works (by the Joslin Diabetes Centre of Boston, the University of Maastricht in Holland and other centres in Finland and Sweden) have been published in *The New England Journal of Medicine*.

The basic tool for being able to identify this tissue and measure its level of activity has been the combination of positron emission tomography (PET) and computed axial tomography (CAT). For example, it has been demonstrated that the uptake of this tissue in all patients was clearly located in the fatty tissue of the shoulders.

Moreover, the new imaging techniques, such as fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET), have provided a collateral and surprising finding: it shows areas with brown fat in adults in the supraclavicular and neck regions, with additional paravertebral, mediastinal or paraaortic and suprarenal deposits, but not interscapular (such as those that exist in newborns).

It has been established that the deposits originally observed with FDG-PET are actually deposits of brown fat tissue, because they are enriched in uncoupling protein 1 (UCP-1). It may be deduced that the low prevalence of brown fat tissue, on the basis of retrospective studies of archive FDG-PET images in hospitals, is due to the underestimation of the true prevalence, since it only reflects an acute activity status; consequently, these retrospective studies do not allow us to conclusively analyse the factors that impact the activity and amount of brown fat tissue.

The combination of innovative imaging techniques has allowed us to learn that the presence of brown fat tissue varies greatly between individuals depending on age (it diminishes over the years), level of glucose (there are larger amounts in individuals with normal levels) and gender (more in women than in men). But the most important relationship is with body mass index (BMI), since brown fat diminishes as obesity increases. This clearly indicates that the presence of this tissue could

“The brown fat acts as a kind of central heating for the new-born, keeping it warm immediately after birth”.

protect against excess weight. Similarly, a cold environment is known to activate brown fat, as was to be expected, to produce more heat.

Thermogenesis

Classically, as Dr. Cannon explained, “we knew that brown fat performed certain basic functions in newborns and in mammals, such as maintaining temperature after birth, counteracting the stress involved in changing from a warm environment to a colder one. Similarly, in animals that hibernate, this fat is mainly responsible for keeping them at a stable and acceptable temperature, playing a basic role in waking them up after this long dormant period”. Brown fat performs an important function in the foetus and new-born, representing between 2% and 5% of their body weight; its main role is thermogenic during the first year of life, after which it was believed to practically disappear in its entirety, turning into white or yellow fat.

Earlier works had also pinpointed the most common location of brown fat in newborns, the main ones being between the shoulder blades, the armpits, nape of the neck and around the major vessels of the torso. It was later confirmed that the distribution of this fatty tissue is also disseminated in other parts of the human body.

The brown fat tissue is characterised by presenting adipocytes or fatty cells with a large main core, a broad cytoplasm and very numerous rounded mitochondria with crests that are very close together and well developed. These mitochondria contain cytochromes that give them this characteristic dark colour. The cytoplasm contains disperse droplets of fatty acids of different sizes, which during routine histological preparation dis-



solve and are lost in the different alcohols, providing the typical perforated appearance when viewed under the microscope. The adipocytes are polygonal and large, although they are smaller than white adipose tissue cells. These distinctions are not absolute, since the adipocytes may be unilocular and have a reduced number of mitochondria when thermogenesis levels are low.

Brown fat is characteristically lobulated, gland-like. It has more capillaries than the white adipose tissue, as well as numerous sympathetic nerve endings. After prolonged fasting, the cells take on an epithelium-like appearance, and their gland-like similarity is accentuated.

The fatty acids stored in the brown fat are used directly by the tissue they are stored in, although they can also move and be used by other tissues in critical situations.

Mammals must keep their body temperature within very a strict temperature range. In embryonic and foetal development, the new being is isolated from the ambient temperature and therefore has no heat regulation. At the time of birth, the newborn must make use of the obligatory thermogenesis of cell metabolism and superficial heat dissipation, for which purpose it has the brown fat tissue that performs an essential thermogenic function that will be used after birth.

As the speaker detailed, “the abundant brown fat tissue in the newborn is there for a reason, as it can work as a kind of central heating that keeps the foetus warm in the immediate post-partum period”.

After birth, postnatal hypothermia produces a stimulus in the nervous system, which innervates the tissue due to an activation of the cold-sensitive receptors in the hypothalamus and in the spinal cord. This tissue is stimulated by the noradrenalin secreted by the autonomous nervous system, which produces the increased hydrolysis of adipocyte triglycerides. The fatty acids are then oxidised with heavy oxygen consumption, and the heat produced heats the blood stream, which in turn keeps the newborn warm.

In newborns with retarded intrauterine growth and a short gestational age, hypoglycaemia and hypoxia are observed, and heat production is also involved. This gives rise to thermal instability, which is harmful to the newborn's well-being, as it has not yet developed brown fat tissue. The energy deposits of these newborns are very low, since the amount of fatty acids stored is insufficient. This all permits heat dissipation, helping the newborn to withstand the change in environmental temperature and surface heat loss.

In this context, and elaborating on the interrelationship between fatty tissue and the thermogenesis process, Dr. Barbara Cannon drew attention to the function of the mitochondrial uncoupling protein, which “is essential to the thermogenesis induced by norepinephrine in brown fat (experimental animal studies have shown that the elimination of UCP-1 in these models is associated with the absence of heat production). UCP-1 is the only protein that is capable of mediating heat production through a mechanism called non-shivering thermogenesis”. By way of example, she indicated that “if human beings enter a very cold environment, we soon begin to shiver; on the other hand, if we spent a couple of weeks in this cold environment these tremors would probably cease, and this effect has a lot to do with brown fat”.

The modification of brown fat induced by a drastic temperature change has been demonstrated in wild-type mice. Following exposure to a hot environment (30°), the mice were switched to a cold environment (at a temperature of 4°). Their muscle activity was intensified and increased considerably, they shivered ostensibly; however, after remaining in this cold environment for a couple of weeks the shivers disappeared completely and their muscle activity waned substantially, although they continued to produce heat. This effect was not reproduced in animals that do not have the UCP-1 protein: they shiver with cold when they are relocated to a cold environment, but they continue with this same muscle activity three weeks later if they are kept in this



“Brown fat seems to have a certain anti-diabetic function, providing protection against obesity and hypertriglyceridaemia”.

environment, i.e. they cannot develop any kind of thermogenesis process because they lack the UCP-1 protein. Therefore, as the speaker highlighted, “it is currently assumed that one of the main functions of brown fat is the stimulation of thermogenesis by means of the activation of UCP-1, generating heat from the fatty acids”.

A similar phenomenon to that which was detected in animal models has been observed in animal models with regard to the process of non-shivering thermogenesis. The presence of UCP-1 has been identified in accumulations of human brown fat, and its existence has been confirmed in very exact locations of the human body (neck, mediastinum and suprarenal). Moreover, two recent and independent studies have verified that people who are subjected to a cold environment present a different energy expenditure depending on their level of brown fat: those who have brown adipose tissue use up to between 200 and 400 calories a day more, which constitutes an increase of 10% to 20% in their baseline metabolism. This effect is so important that, as Dr. Cannon stated, “if people could maintain this metabolic rate over time it would probably be sufficient to guarantee a suitable body weight”.

Like mice, human beings have a mechanism of non-shivering thermogenesis, and also have the capacity to adapt to the cold. Recent studies by Saito and Tsujisaki on the Japanese population have confirmed that brown fat can be formed: whereas in summer the population presented less presence of brown fat, in winter, and thanks to novel imaging techniques, a significant increase in brown adipose tissue was detected. Thus, a very

simple stimulus such as a cold environment generates an impact and activates this “good” fat that consumes calories and reduces weight.

The next question is to know how to use this mechanism to reduce the risk of obesity and of other associated diseases. And the fact is, as the expert from the University of Stockholm stated, “we have an activation of the UCP-1 protein that induces the production of heat, leading to the burning of fat. Can you imagine how great it would be to burn fat or food inside these brown adipocytes, converting this food into heat and not into fat, using it instead of storing it?”

If we have a proper energy balance, the food we eat becomes heat and is not stored as fat; however, if we eat more than the energy that we use up, there is a risk of the energy accumulating in the form of fat. “If we had an additional fat combustion mechanism that increased energy expenditure, perhaps we would be more efficient in burning surplus fat and the latter would not accumulate in the organism”. In Dr. Cannon’s opinion, “diet-induced thermogenesis exists and is totally located in the brown fat tissue”.

Health consequences

One of the most important consequences derived from the lack of thermogenesis induced by the brown adipose tissue is the development of obesity. “If we do not have UCP-1 and therefore do not have active brown fat, the risk of accumulating more fat, and subsequently obesity, is heightened”, clarified Dr. Cannon, who opines that “there is already enough evidence in animals and human beings to endorse this hypothesis”.

In animals with UCP-1 (-/-), in comparison with those that are UCP-1 (+/+), a greater body weight increase is documented, even although they were on the same fat-rich diet: the mouse without brown fat eventually becomes fatter. This was in comfortable environmental and temperature conditions for these animals. In summary, explained the speaker, “the animals that do



not have UCP-1 and therefore have a deficit in brown fat are more prone to becoming fatter on the same fat-rich diet than those that have the UCP-1 (+/+) protein. Therefore, we have to conclude that active brown fat provides a certain degree of protection from the risk of developing obesity”.

In thermogenesis, the brown tissue uses, firstly, the lipids stored as a substrate to generate heat. This early phase of thermogenesis corresponds to the release of noradrenalin from the sympathetic nervous system, activating the release of fatty acids from the triglyceride droplets. Some of these fatty acids activate UCP-1, whereas the remaining fatty acids are imported into the mitochondrion, where thermogenesis takes place, and the energy is dissipated in the form of heat due to the activation of UCP-1. As the brown fat tissue constitutes a small percentage of total body weight, circulating triglycerides have to be imported and burnt to maintain sustained thermogenesis.

Recent works have demonstrated that the brown adipose tissue, besides being implicated in thermogenesis, could play a leading role in lipid metabolism. Studies by Bartelt and Heeren investigated the effect of the administration of radioactive-labelled lipid particles in mice kept in a cold environment, showing that practically half of these particles penetrated the brown fat, suggesting that the brown adipose tissue provides protection against hypertriglyceridaemia.

Repercussions on metabolic syndrome

A possible effect of brown fat on metabolic syndrome has been suggested, and it is regarded as a factor that may be capable of reducing the impact of this syndrome, which involves disorders such as obesity, hypertriglyceridaemia and hyperglycaemia. According to the Swedish researcher, “brown fat can improve obesity, triglycerides and perhaps hyperglycaemia”.

With regard to the effect of brown fat on glucose availability, studies in mice have shown that the stimu-

lation of brown fat is not only associated with an activation of the process of thermogenesis, but that the glucose absorption process is also activated in parallel. It therefore transpires that brown fat activates the destruction of glucose and, in certain circumstances (still not properly clarified), it has an enormous potential for absorbing glucose from the blood (an absorption process performed by different glucose carriers, such as GLUT-1 or GLUT-4). Indeed, as Dr. Cannon indicated, “brown fat not only has the capacity to absorb glucose, it also absorbs fat from blood; what is more, we now know that it burns glucose and fat to convert them into heat”.

The findings obtained when radioactive-labelled glucose particles are given in these animal models are no less relevant. It is estimated that up to 75% of these particles are absorbed by the brown fat, and that the latter is also capable of absorbing up to 50% of the lipid particles. “This is truly surprising, particularly if we take the scant space occupied by brown fat in mice into account”, the speaker remarked. It is confirmed that both lipids and carbohydrates are oxidised when the UCP-1 protein is activated. It has also been demonstrated that mice that lack the UCP-1 protein are sensitive to insulin and yield a poorer response when they are subjected to a glucose overload test, and that mice with UCP (-/-) on normal feeding have higher fasting glucose than mice with UCP (+/+). Therefore, brown fat is fundamental for the homeostasis of glucose, even in normal mice (non-hyperglycaemic and on a normal diet).

On the basis of these findings, Dr. Barbara Cannon surmised that “brown fat seems to have a certain anti-diabetic function, and may also protect against obesity and hypertriglyceridaemia”. In mice, she asserted, “brown fat has an anti-metabolic syndrome function”.

And in human beings?

However, now the challenge is to try to transfer this evidence to human beings and endorse their clinical appli-



“Keeping the brown adipose tissue activated throughout our life could provide protection against the effects of obesity and diabetes”.

cability. In the speaker's opinion, “these observations are applicable, to a certain extent, to human beings”.

In collaboration with a group of Italian investigators, led by Zingaretti, Dr. Cannon has sought to discover if brown fat does in fact play a crucial role in the development of obesity in human beings and, more specifically, if a deficit of this adipose tissue really does make us more prone to having this disease. Among other results, the authors of this work have reported that, on comparing human beings with brown fat to others lacking it, major differences in body density are obtained, and that there is also a significant correlation with age. It was found that the absence of brown fat can cause obesity and that this type of obesity is lost with age.

It is currently accepted that the presence of brown fat in young adults is high, but its activity is reduced because it is inversely related to BMI and the presence of body fat, especially in older individuals. The signal for the activation of the brown adipocytes is a temperature below that which is regarded as neutral (34°C for mice, 28°C for rats and 20-22°C for human beings). The diet could also activate the brown adipose tissue, which is responsible for food-induced thermogenesis, in the same way.

Which comes first?

However, are people obese because they have a brown fat deficit or do they lack brown fat because they are obese? Or is a combination of both factors possible?

In view of the impossibility of answering these questions with total certainty, Barbara sought to provide one final idea on bariatric surgery, posing the question as to

whether its effects on obesity are achieved because this surgery physically or chemically (hormonally) activates (or reactivates) the brown fat. In any case, she affirmed that “we have definitely been able to show that after gastric bypass surgery, for example, an obese subject with practically no brown fat goes on to present a considerable increase (demonstrated by means of sophisticated imaging techniques)”.

On another interesting note, the Swedish expert acknowledged that “currently the only functional evidence for a possible significance of brown fat in human beings is genetic”. Numerous studies have established significant associations between polymorphisms of the UCP-1 gene and obesity-related alterations, such as proneness to weight gain over time (in normal and already obese individuals).

The UCP-1 gene is located in the chromosome 4 (4q28-q31). The role of UCP1 mediated thermogenesis in human beings is not clear, although the presence of the -3826 A/G variant of the UCP-1 gene promoter has been associated with a reduction in the expression of UCP-1 messenger RNA, a lower weight loss in subjects on a low-calorie diet and other metabolic disorders of the obese phenotype. Moreover, an interaction between the β 3-adrenergic receptor gene and the UCP-1 gene with regard to baseline metabolic rate has been described. “If we are lucky enough to have received the -3826 A/A variant from our progenitors in the region of the UCP-1 gene promoter, we will express a greater amount of this protein; on the other hand we will not be so lucky if our parents bequeath us the -3826 G/G polymorphism”, stated Dr. Cannon. The fact is that it has even been demonstrated that people with A/A have a higher energy expenditure at rest and also burn more fat when they are on a high-calorie diet (as compared to those who express the A/G variant and with G/G).

New studies conducted in Japan have also concluded that these genotype replacements accelerate the



age-related reduction in brown fat activity and may therefore be associated with the accumulation of gut fat that occurs over time.

Finally, a study published recently by a group of investigators from the Czech Republic shows that people with the A/A genotype are more likely to be in a lower BMI quartile than those with the A/G or G/G genotype; this would explain why people with the A/A variant can eat more than those with a G/G without putting on so much weight.

On the basis of these studies, Dr. Barbara Cannon opined that “the extrapolation of the data obtained in mice to human beings leads us to think that the absence of brown fat in these people is a factor that causes obesity”.

But why do we lose it with age? Young adults have a certain amount of brown fat and burn most of the food

they eat through this adipose tissue and have a small amount of white fat. On the basis of this reality, the speaker asserted that “brown fat is not only regulated by the sympathetic nervous system, it is also negatively regulated by cortisol and positively by the sex hormones. People with Cushing’s syndrome are known to experience an increase in cortisol and a significant reduction in active brown fat. As we get older, cortisol levels do not change, but sex hormones diminish: this might be a reason why the amount and activity of brown fat diminishes as people get older”.

As a take-home tip, Dr. Cannon concluded that “brown fat must be kept active, and this can be done through simple measures such as reducing bedroom temperature”. The fact is that keeping the brown adipose tissue activated throughout our life could provide protection against the effects of obesity and diabetes. ■

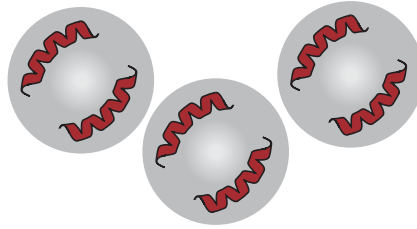
discussion

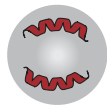
Moderator:

Juan Carlos López

Round table:

Marc Y. Donath , Matthias Tschöp and Barbara Cannon





Discussion



Drs. Donath, Tschöp and Cannon during the discussion.

Question: *My congratulations on a fantastic session. I would like to begin with a question about brown fat. Dr. Cannon recommended that we keep the brown fat active. But how do we accomplish this?*

Barbara Cannon: There is no doubt that brown fat must be kept active. The easiest way, without resorting to drug therapy or bariatric surgery, is to reduce the temperature in the bedroom, keep it colder, and this will probably help; and I mean that seriously, very seriously.

Question: *You have studied a very interesting group model in clinical practice, I mean the metabolically healthy but obese person. In our experience, this group of patients accounts for approximately 25% of the people we see. We follow them*

up for years, and in fact they do not tend to present major changes because although they have metabolic syndrome they do not have hypertriglyceridaemia. What should we do in these cases?

Barbara Cannon: Regarding the healthy obese patient, I am not a clinician so I am sorry I cannot give you a clear answer there. Undoubtedly, being a researcher, these people fascinate me, but I really do not know what we could do in these cases and what role brown fat plays in this regard.

Question: *Another spontaneous model would be comprised of former sports-persons or athletes, such as Sumo wrestlers. It appears that when they retire they continue to be fine, and it has been*

suggested that this might have something to do with the change in the brown adipose tissue, because apparently they were not originally obese but became so.

Barbara Cannon: In the last two years, a great deal has been said about Sumo wrestlers when they stop exercising. Particular attention has been paid to things related to proteins and the role of the protein-secreting muscles that are capable of activating white fat do to turn it into brown fat. This is theoretically possible; however I doubt that it has an important effect... Possibly, these people continue to eat more without doing any exercise, but I have no information in this regard and neither is there any consistent documentation on it in the literature.



Type 2 diabetes generated a great expectation.

Marc Donath: With regard to the question of the healthy obese, I think that the question we really have to answer is to what extent being obese is healthy. In any case, it would appear that these obese and apparently healthy people have quite a few complications, since they tend to suffer more disorders derived from their body weight than thin people. These healthy obese might not have a significantly greater risk of having diabetes than thin people, but things change if we consider other complications. Therefore, in these cases I would still continue to advise them to lose weight.

On a different tack, I would also like to make a further comment on another topic that has come up during the forum. We usually associate

obesity with insulin resistance, but we should also realise that there is a great degree of heterogeneity. In any case, we know that the fatty tissue is the target of insulin and that if you have more healthy fat then you are more insulin-sensitive and so is the PPARgamma activator; but in the long terms the system reaches a limit, and at a given point the fat increases, it will continue to increase and will become unhealthy. Hence, some healthy obese people may have good fat for a certain period, but this time is limited and the situation may change radically at some point; they will also have a phenotype that is not so healthy.

Comment: In our experience, which is detailed in a prospective study, the so-called Segovia study, we

found absolutely no indication of inflammation. We have follow-ups with some markers, such as C-reactive protein, and they do not change over time; our follow-up has now reached 6 to 7 years. Neither have we managed to directly associate obesity with any candidate genes and have found no significant relationship. Even on applying corrections for any factor of interest, such as the diet or physical activity, we did not find anything important. This may be because as yet we do not have a long-term follow-up; in fact, we do not even know if they eventually have as many complications as the metabolically unhealthy.

Question: *I would like to know a bit more about the effect of the beta-adrenergic agonists, which are anti-diabetics and anti-obese agents in rodents, but the studies performed in humans are neither as extensive nor as conclusive.*

Barbara Cannon: If someone is obese, they will probably have only a small amount of brown fat, so for it to work there must be more tissue and tissue must be active, it needs to be active. We know that even in studies in rodents, $\beta 1$ and not $\beta 3$ must be activated to obtain more brown tissue, because the progenitor cells only have $\beta 1$ receptors; therefore, $\beta 3$ will only work in people who already have brown fat. If we take a close look at certain studies by some of the

pharmaceutical companies, such as Takeda, we can see that there are indications of positive effects of the β_3 agonist, and they would probably be more significant if it had been possible to divide the patients into two cohorts: the negative brown fat group and the positive brown fat group.

There may be a potential for this type of treatment. But I am worried that these studies that are now being conducted with patients treated with normal doses of the beta-blocker propranolol to eliminate the signal in the PET so the radiologists can see the metastases. These people respond to a normal dose of propranolol, which would indicate, considering the sensitivity to β_3 , a lack of sensitivity to propranolol. This would all demonstrate that human brown fat may be more activated by β_1 than by β_3 . Unless we can demonstrate a good β_3 response, I personally do not believe that the beta-adrenergic agonists are a good option in this field for human beings. The key undoubtedly lies in maintaining the brown fat active so as not to become obese.

Question: Regarding the white tissue that gradually turns brown, recent studies have given us some pointers on secreting proteins and brown fat. What is your opinion on that?

Barbara Cannon: Several groups of investigators have been working for years in search of brown fat-

secreting proteins; there are many white ones but not so many brown ones. Unfortunately we have found nothing specific for brown fat.

Question: If I understood properly, Prof. Tschöp ascribes the effects of GLP-1 of the agonist conjugates to the nuclear receptors. Can you rule out the possibility of some of these effects being mediated by GPR30?

Matthias Tschöp: That is a very good question. The oestrogen-mediated effects are a very complex field in which we have performed a series of experiments with a loss of function in genetic models (for example, eliminating the alpha and beta receptors). With these function losses we see less benefit of the oestrogen in GLP-1, but it never disappears completely. We have not been able to do a double knock-out and we cannot do the knock-out for the GPRC1. Of all the data we have seen to date, I might deduce at least that there is an internalisation process and that it occurs in the cells, but I do not have enough data to really prove it. Perhaps GPCR does provide some additional benefit.

Question: We have heard about different drug treatments, and even surgery, to address obesity and diabetes, and the important role of brown fat has been emphasised. We have been looking for solutions

to these problems for decades using drugs, on the other hand we have solid A1-type evidence, with eminent physiologists, that clearly certify that the key to these disorders is sarcopenia, i.e. the degenerative loss of muscle mass and strength from aging or from leading a sedentary life. If we do not have muscular mass, we will never be able to metabolise fats and glucose as a source of energy. In this context, what value do you attach to muscle activity and the increase in muscle mass to fight these health problems?

Matthias Tschöp: None of the investigators participating in this forum have studied the muscle as a way of earning a living, but I see that the models that we use, the animals we use, do not generally come with less muscle mass, they gain more fat but do not tend to lose muscle mass. Having said that, if muscle mass is lost, this is definitely not good for overall metabolism.

In any case, on the basis of the little that is known about this field, I would say that this is not the main cause of the epidemic of diabetes type 2; I mean that I am sure that it is not the main determining factor of this epidemic, although neither would I deny its importance. Basically, I agree with you that the muscle is very important for several reasons. Firstly, the muscle uses a lot of energy and of course this is something that is closely related to obesity. This



Ramón Areces Foundation held the sixth conference of this cycle.

is particularly important if we consider that not only do we eat too much, but also that we do little exercise. In our clinical practice not only do we act upon the diet, we also promote exercise.

Moreover, and here I agree with you, I think that an extensive and promising field of research is opening up here, which began when it was discovered that the muscle cell produces cytokines. The first one to be described was IL-6, an interleukin that performs multiple functions in this field, such as stimulating GLP-1. It is true that the muscle is important and we are not neglecting it. But I must say that if we are dealing with a patient who weighs 160 kg, then to be effective we are going to need other things, such as some of the drugs that have been addressed here.

Barbara Cannon: In this regard, I would like to underscore the idea

commented by Prof. Tschöp, namely that patients with diabetes type 2, like our mice, do not necessarily initially have a reduced muscle mass, when the disease develops, but rather that they simply tend to present reduced insulin resistance.

Question: *I wanted to ask about this surprising physiological change that takes place in the amount of brown fat in winter. Do we know if it is hyperplasia or the white tissue that turns brown with the activation of the stem cells?*

Barbara Cannon: We have no evidence in humans; we only have a single study with PET where the brown fat activity was observed, but nothing else. On the basis of the data obtained in animals, I suspect that it is hyperplasia combined with an augmented differentiation of the old cells and the new ones, but there is still no evidence that this is so in human beings.

Question: *I am aware of the benefits of bariatric surgery, but I am disappointed that we cannot get the same results in people using more physiological media. Even in Spain we are witnessing an important increase in bariatric surgery in children. What is more, as a paediatrician it is sad to see the marked increase in obesity and sedentariness in Spanish children.*

Matthias Tschöp: I share your disappointment. I share a similar experience: I have lived in Cincinnati, United States, for 8 years, which not only has one of the highest child obesity rates, but it also has the dubious honour of having the world's highest rate of bariatric surgery in children. This is obviously not the right road, it is a mistake.

Our laboratory tries to understand and comprehend why such a high degree of bariatric surgery is achieved so that we can then design

less traumatic and more physiological treatment options. We are convinced that its beneficial effects on obesity are not only due to the fact that stomach size is reduced; there is something that happens in terms of molecular signalling that largely determines how this resource works and also helps in the management of diabetes. To this end, we need to have a better understanding of this in order to limit these risky and invasive operations and do something more drug-based.

In an ideal world, it would be fantastic not to have to give tablets or injections to do away with diabetes and obesity, using only education as our weapon, suitable training on the value of exercise and of healthy nutrition. However, we are nowhere near this perfect world: the epidemic continues and we have not seen any major change over the last two decades.

Question: *And how would you explain this failure basically?*

Matthias Tschöp: There are several reasons. One of them is related to the fact that once there is obesity there can be a very interesting reprogramming. In this sense, our laboratory performed an experiment with mice, which we made obese and then thin; we compared them to some that had never been obese and everything seemed the same. However, we gave the ones

that had no previous record of obesity a McDonalds-type diet, verifying that there was a 100% greater weight gain and greater appetite in those rodents once they were obese. Therefore, there is a kind of reprogramming in which certain epigenetic mechanisms may play a pivotal role.

In a nutshell, I believe that we should worry about the excess of child obesity, but that we should not lose hope. Before giving up and assuming that we are facing an over-complicated challenge, we should at least try to reach a better personalised medicine and expand a public education that promotes better lifestyle habits.

Comment: There is no doubt that the diet is crucial, even the parents’

Matthias Tschöp: That’s right. A recently published article in the Cell journal shows that the diet the mother is exposed to during pregnancy and during breastfeeding is very important for the mice’s litter and has an enormous impact on their future life. A large part of this influence is due to certain interactions between some nutrients and certain genes, and in which the neurons play a decisive role. It has been confirmed that neurons grow differently in the brain, which is where appetite is regulated, depending on what the mother eats during pregnancy and breastfeeding, which all has a major impact on in-

sulin secretion in the litter. It is true that we still do not fully understand all these mechanisms and that perhaps the situation is not identical in human beings, but they are findings that give us food for thought.

There is no doubt that we face a very complex problem and therefore that the solution is not just about doing more exercise and being healthier: we have an obesity epidemic and our genetic programming is already affected.

Juan Carlos López: *I would like to refer to one aspect that has not been addressed at the meeting and which is related to the role of macrobiotics and the role of the microbioma. Many people are very enthusiastic about the fact that the genes we have in our organism are not ours, but the microbioma’s. Many studies have been conducted which have shown, among other things, that the bacteria of our intestine contribute to the regulation of glucose metabolism. In fact, many studies have demonstrated that this intestinal flora has an influence on obesity, inflammatory reactions, asthma and even on the nervous system. It is such a good and interesting idea that everyone is excited with this approach. What do you think?*

Matthias Tschöp: I personally am not so excited about the data cu-



rently available, since they do not strike me as very conclusive. I sincerely think it is a passing fashion.

Juan Carlos López: The microbiota is a new field which hitherto had received little attention. From the therapeutic standpoint, there are different ways of tackling this question; one is whether there is a correlation between different bacterial types and the incidence of pathologies such as asthma or colitis, and what we can do is change the intestinal flora with probiotics or faecal transplants, i.e. relatively simple treatments. Another therapeutic approach is based on if we understand how bacteria impact the development of the disease, it will all lead to the identification of new therapeutic targets that can be exploited to obtain new treatments.

This matter is interesting, because not only does it affect intestinal and metabolic questions, but also immunological problems. Here, it is possible to establish a certain relationship between diabetes and microbiota. The strongest relationship has been found between the intestinal flora and obesity, and this is a risk factor for diabetes. Therefore, it is possible to establish a relationship between metabolic syndrome and the microbiota, although the exact mechanisms that cause this are not properly known, and it is a field that many scientists are investigating.

Question: *On the question of gut microbiota, some articles show that a high-fat diet reduces the gut microbiota and produces metabolic endotoxaemia, which is the beginning of the inflammatory process that can lead to the development of diabetes type 2. In my opinion, the gut-brain axis is not limited only to the incretins, there are other highly complex elements in the microflora. I see it as a very interesting field, and these aspects need to be investigated. That is why I would suggest that along with the measuring of proinflammatory markers (such as CRP), it would be convenient to measure, in the obese, the presence of metabolic endotoxaemia, the presence of which has been confirmed in metabolic syndrome. If it is divided into quartiles, it transpires that the greater the number of metabolic syndrome components there are, the greater the endotoxicity there is in the microflora, which would be suggesting that the intestinal microbiota has decomposed; and this occurs even before the inflammation process develops. Studies conducted recently in France have clearly demonstrated in animals that there is a very close relationship between endotoxaemia and inflammation markers, and this must also be taken into account when planning the therapeutic approach.*

Matthias Tschöp: I am also very sceptical about these theories, although I do admit that they are very intriguing. I am not at all convinced that these theories based on intestinal gastric leaks that cause inflammation; initially attracted my attention a great deal, although in the last five years I have seen no convincing data.

Marc Donath: In any event I agree that the incretins are very important, which is why we have studied this area. There are many elements involved in diabetes and the challenge lies in managing to identify the right agents and developing suitable prevention. Each investigator has to take their own decisions; I may be wrong, but I would insist that this whole microbiota theory has been exaggerated.

When we talk about diabetes type 2, we are clearly talking about a heterogeneous disease, and it is impossible to know with any certainty what the most important cause behind this disorder is. In general, I do not think that any single cause is more important than another: one factor may be more decisive in one patient whereas the most outstanding factor may be different in another patient. This is why endotoxins may perform a crucial function in some patients, but not in all of them.

Juan Carlos López: *By way of conclusion, what would your take-home messages be?*

Marc Donath: I think that we all agree that the solution in diabetes type 2 must come, first of all, through weight reduction in the obese and prevention. And the investigators attending this forum are working towards this goal.

Matthias Tschöp: Despite the frustrations of the last 2-3 decades, when it has been difficult to make progress, and this epidemic has increased, we are doing very interesting things and taking very different approaches. Progress has been made in the knowledge of the inflammatory bases and immunological mechanisms. We also realise that we are facing a heterogeneous disease, where it is necessary to identify the correct biomarkers to know who needs what. We accept that we have to

personalise drugs to guarantee fewer side effects and give the right drug to the right patient. This is what we have to do in the coming years.

Barbara Cannon: There is one essential aspect that it has not been possible to address in great detail at this meeting: why people become obese. It is not simply that people do less exercise; I think this aspect is too trivial. However, it is true that the diet of the population, particularly in the western countries, has changed substantially in recent years. I wish I could ban Coca-Cola, for example; that would be a good beginning, and reduce meal sizes.

But it is also true that we are dealing with a very complex problem involving numerous intrinsic

and extrinsic factors; thus, there are even investigators who regard obesity as a viral problem or who believe that the preservatives that are being added to food are the main culprits of the increase in the epidemic... I believe that there are many more factors that might have an important effect; more specifically, I personally believe that the function of brown fat is of enormous interest. The analysis of what we call the “fat of the mature human being” opens up great possibilities, in other words when one begins to become fatter when one reaches maturity; however, I do not believe that this line of research will give us the definitive solution in the treatment of widespread obesity. |

Diabetes mellitus tipo 2 / Type 2 diabetes mellitus

El campo de la diabetes es muy amplio, pues diversos órganos tienen diferentes funciones en el control metabólico. No sólo el páncreas y el tejido adiposo regulan el metabolismo, sino que también el músculo, el cerebro y el hígado tienen papeles cruciales en esta patología, por lo que es necesario tener una visión holística sobre el síndrome metabólico.

En la actualidad, un 25% de la población mayor de 20 años padece síndrome metabólico, pero el perfil de edad media de estos pacientes ha disminuido de forma dramática en los últimos años. ¿Se mantendrá esta tendencia en el futuro? ¿Son eficaces los tratamientos actuales? ¿Se están investigando nuevas dianas terapéuticas?

The field of diabetes is very broad, as different organs have different functions in the metabolic control. Not only the pancreas and adipose tissue regulate metabolism, but also muscle, brain and liver have crucial roles in this disease, so it is necessary to take a holistic view on the metabolic syndrome.

At present, 25% of the population over 20 years is suffering from metabolic syndrome, but the average age profile of these patients has decreased dramatically in recent years. Will this trend continue in the future? How effective are the current treatments? Are new therapeutic targets being investigated?

