

SEÑALIZACIÓN INTRACELULAR ACTIVADA POR LEPTINA Y SU MODULACIÓN POR EL EJERCICIO FÍSICO (I)

INTRACELLULAR SIGNALING PATHWAYS ACTIVATED BY LEPTIN AND ITS MODULATION BY EXERCISE (I)

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de la leptina a finales del año 1994¹ supuso un paso muy importante en el conocimiento de los efectos mediados por los diferentes factores producidos por el tejido adiposo sobre la homeostasis energética. La leptina o el producto del gen *ob* es una hormona de 16 KDa producida por los adipocitos, en proporción directa a la masa grasa, que actúa disminuyendo el apetito y aumentando el metabolismo basal a nivel del sistema nervioso central (SNC)²⁻⁶. Esta hormona posee una estructura similar a la que poseen los miembros de la familia de citoquinas de cadena larga, incluyendo al LIF (*Leukaemia Inhibitory Factor*), CNTF (*Ciliary Neurotrophic Factor*), OSM (*Oncostatin-M*) y CT-1 (*Cardiotrophin-1*), así como a IL-6 (*Interleukin-6*), IL-11 (*Interleukin-11*) e IL-12 (*Interleukin-12*)⁷⁻¹¹.

Los niveles circulantes de leptina correlacionan directamente con el IMC (Índice de Masa Corporal) y con la cantidad total de masa grasa^{7, 12-14}. De esta forma, un aumento de la masa grasa total producirá mayores niveles circulantes de leptina^{3,15}, por el contrario, la reducción de las reservas de grasa corporal por la práctica regular de actividad física o por la dieta producirá un descenso de las concentraciones plasmáticas de la hormona¹⁶⁻¹⁹. Aunque la leptina es mayoritariamente producida y secretada al torrente sanguíneo por los adipocitos, esta no es la única fuente potencial de la hormo-

na. Se ha observado que existen otros tejidos que son capaces de producir pequeñas cantidades de leptina en determinadas circunstancias, entre ellos cabe destacar la placenta, la mucosa gástrica, la médula ósea, el epitelio de la glándula mamaria, el músculo esquelético, la pituitaria, el hipotálamo y el hueso²⁰⁻²³. Inicialmente, se pensó que los efectos de la leptina se producían únicamente a nivel central, sin embargo, actualmente se sabe que la leptina es una hormona pleiotrópica que ejerce funciones fisiológicas tanto en el SNC como en múltiples tejidos periféricos^{14,24-29}. Entre los diferentes tejidos periféricos diana de la acción de la leptina se encuentra el músculo esquelético, principal tejido regulador del metabolismo basal y uno de los principales moduladores del metabolismo de los ácidos grasos y de la glucosa³⁰. En este tejido la hormona actúa incrementando la oxidación de los ácidos grasos, reduciendo la acumulación de grasa intramuscular y aumentando la captación de glucosa y el consumo energético^{29,31-35} (Figura 1). El descubrimiento de esta hormona ha producido en los últimos años un gran avance en el conocimiento de algunos campos concretos como son el del apetito y del control del peso corporal, así como en campos más generales como son los de la endocrinología, metabolismo, reproducción, inmunología, patofisiología cardiovascular, función respiratoria, crecimiento y desarrollo^{20,36}. El hecho de que esta hormona ejerza acciones sobre múltiples tejidos ha supuesto que en los últimos años se haya realizado un gran esfuerzo investigador con el objeto de pro-

Teresa Fuentes¹
Alfredo Santana^{1,2,3}
Hugo Olmedillas¹
Amelia Guadalupe¹
José AL. Calbet¹
Borja Guerra¹

¹Laboratorio de Rendimiento Humano Dpto. de Educación Física, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria Las Palmas de Gran Canaria
²Unidad de Genética, Hospital Materno Infantil de Las Palmas Las Palmas de Gran Canaria
³Unidad de Investigación, Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín, Bco Ballena s/n, Las Palmas de Gran Canaria

CORRESPONDENCIA:

Borja Guerra Hernández
Laboratorio de Rendimiento Humano. Departamento de Educación Física. Campus Universitario de Tafira S/N.
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 35017 Las Palmas de Gran Canaria. Gran Canaria. Canary Islands. Spain.
Email: Borja.Guerra@gmail.com

Aceptado: 13.11.2007 / **Revisión nº** 219

FUENTES T.
et al.

FIGURA 1. Pleiotropismo de las acciones de la leptina en el Sistema Nervioso Central (SNC) y en tejidos periféricos. La leptina regula determinadas variables que controlan el peso corporal y la homeostasis energética tanto a nivel central como periférico, destacando especialmente las acciones ejercidas por la hormona a nivel de uno de los principales tejidos moduladores del metabolismo basal, como es el músculo esquelético

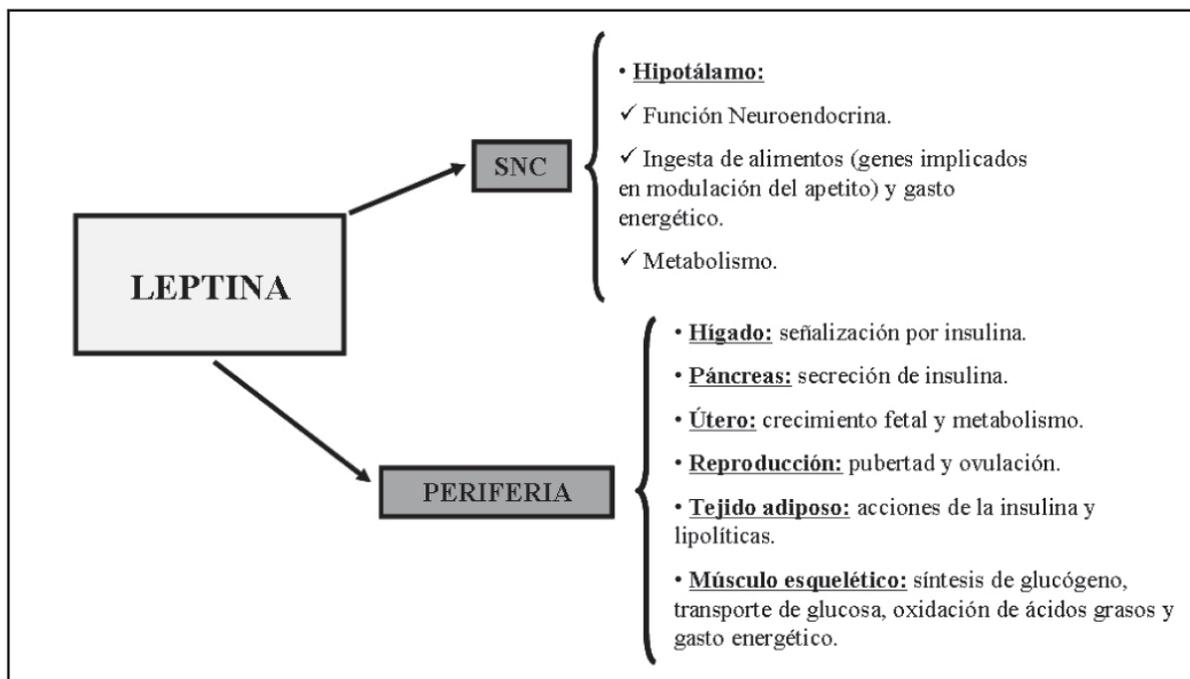
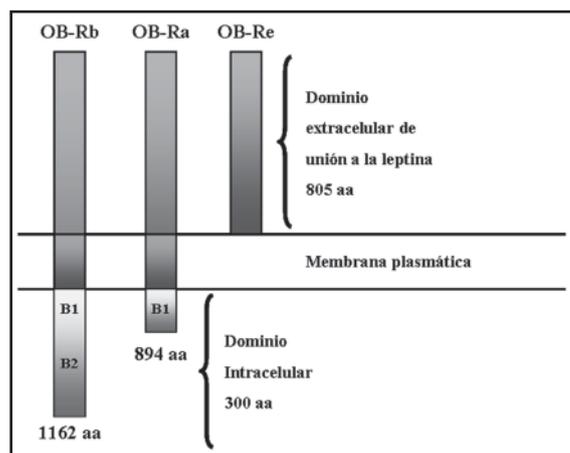


FIGURA 2. Representación esquemática de los diferentes dominios de las isoformas larga (OB-Rb), corta (OB-Ra) y secretada (OB-Re) del receptor de leptina. Únicamente OB-Rb posee una cola citoplasmática, altamente conservada en múltiples especies, que contiene los motivos Box 1 (B1) y Box 2 (B2), necesarios para la interacción, y máxima activación, de determinadas quinasas intracelulares



fundizar en el conocimiento de las diferentes vías bioquímicas y moleculares activadas por la leptina y que gobiernan los diferentes efectos de la hormona, lo cual podría tener importantes implicaciones en el tratamiento de algunas patologías, como por ejemplo la obesidad.

En este trabajo de revisión describiremos las diferentes vías de transmisión de señales al interior celular activadas por la leptina en tejidos periféricos como el músculo esquelético, centrándonos especialmente en las que podrían ser moduladas

por la práctica regular de actividad física y que están potencialmente implicadas en obesidad.

RECEPTORES DE LEPTINA

La naturaleza pleiotrópica de las acciones de la leptina se debe a la distribución universal de su receptor. La hormona ejerce sus acciones tanto a nivel central como periférico^{3,15,37,38} interactuando con receptores transmembrana (OB-Rs) que poseen una estructura muy similar a los pertenecientes a la familia de receptores de citoquinas de la clase I^{39,40}. Existen al menos seis isoformas de OB-Rs, designadas como OB-Ra, OB-Rb, OB-Rc, OB-Rd, OB-Re, y OB-Rf, y generadas por procesamiento alternativo de un único ARNm y/o por procesamiento proteolítico de los productos proteicos subsecuentes^{39,41,42}. Todas estas isoformas poseen en común un dominio extracelular de unos 800 aminoácidos, un dominio transmembrana de 34 aminoácidos y difieren en el dominio intracelular que es característico de cada isoforma^{39,41,42}. Por tanto, estas isoformas pueden ser clasificadas dentro de tres clases: corta, larga y secretada o soluble (Figura 2).

A pesar de que las isoformas cortas del receptor (OB-Ra, OB-Rc, OB-Rd y OB-Rf) poseen una pequeña cola citoplasmática de 30-40 aminoácidos, sólo la isoforma larga (OB-Rb) fue inicialmente considerada como la forma funcional del receptor porque es la única que posee una cola citoplasmática de unos 300 aminoácidos, altamente conservada en numerosas especies, que contiene una serie de motivos imprescindibles para la interacción de otras proteínas y para la posterior activación de determinadas vías de señalización^{39-41,43}.

Se ha observado que la ausencia de OB-Rb es la responsable del fenotipo obeso del ratón *db/db* y de la rata *fa/fa*⁴⁴. Otros estudios han demostrado que la eliminación selectiva de todas las isoformas de OB-R en neuronas produce obesidad en ratones, lo que evidencia la importancia de la acción neuronal de la leptina en lo que se refiere a la modulación del peso corporal⁴⁵. La isoforma larga del receptor (OB-Rb) se expresa mayoritariamente en el hipotálamo⁴⁶, aunque recientemente se ha demostrado su presencia proteica en músculo esquelético humano en un estudio desarrollado en nuestro laboratorio³⁸. Las isoformas cortas también se expresan en determinadas regiones del SNC como son los plexos coroideos, aunque su expresión es mayoritaria en tejidos periféricos como el adiposo^{26,38}. Las funciones de las isoformas cortas no están completamente aclaradas, si bien podrían ser la recaptación de la leptina desde el fluido cerebrospinal así como el transporte mediado por el receptor de la hormona a través de la barrera hematoencefálica^{26,47}. Por otro lado, se ha demostrado que la isoforma secretada o soluble (OB-Re), la cual carece del dominio intracelular, es la principal proteína unida a la leptina (*Leptin Binding Protein*) en la sangre humana⁴⁸, y que sus niveles circulantes dependen del sexo, del grado de adiposidad y de la administración de su hormona⁴⁹. Inicialmente, la investigación de las diferentes acciones de la leptina sobre la homeostasis energética y el control del peso corporal, se centró únicamente en el SNC. Sin embargo en la actualidad, y debido fundamentalmente a la amplia distribución de las isoformas cortas y largas de OB-R en numerosos tejidos extra-neurales, se está prestando

un interés cada vez mayor a los efectos de esta hormona en la periferia como prueba del pleiotropismo funcional de la misma.

PRINCIPALES VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ACTIVADAS POR LEPTINA

En los últimos años la investigación sobre los múltiples efectos de la leptina se ha centrado en el estudio de las diferentes vías de señalización activadas tras su unión al receptor; esto ha permitido profundizar en el conocimiento de los mecanismos bioquímicos y moleculares que gobiernan las diferentes acciones de la hormona. Inicialmente, la aceptación de la similitud estructural del OB-R con determinados miembros de la superfamilia de receptores de citoquinas resultó en la pronta identificación de la vía de señalización de JAK/STAT (*Janus Kinase / Signal Transducer an Activator of Transcription*) como una de las principales cascadas de señalización activadas por la leptina⁵⁰⁻⁵³. Estudios posteriores han mostrado que sólo OB-Rb contiene una serie de motivos en su cola citoplasmática que son necesarios para la correcta activación de la vía de JAK/STAT (Figura 3).

Cascada de señalización de JAK/STAT

Los receptores funcionales de citoquinas, entre los que se incluye OB-R, poseen en su cola in-

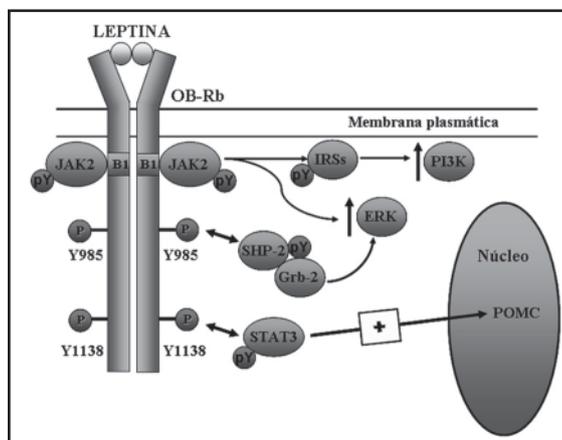


FIGURA 3. Mapa de las vías de transmisión de señales al interior celular activadas por la leptina a través de la isoforma larga del receptor (OB-Rb). La unión de la hormona a OB-Rb permite la interacción de JAK2 con el motivo rico en prolinas Box1 (B1) de la cola citoplasmática de OB-Rb. Esta interacción produce la fosforilación y activación de JAK2, lo que a su vez resulta en la fosforilación de OB-Rb en las tirosinas 985 (Y985) y 1138 (Y1138) y en subsiguiente activación de diferentes cascadas de señalización. Esta señalización intracelular resulta en la regulación de genes que responden a la hormona como la Proopiomelanocortina (POMC).

tracelular, en yuxtaposición con la membrana plasmática, un motivo rico en el aminoácido prolina que se denomina *Box 1* y que es esencial para la interacción y activación de JAK⁵⁴. Existen además otras secuencias menos conservadas, denominadas *Box 2*, que también juegan un importante papel en la interacción con JAK y en la discriminación de las diferentes isoformas de OB-R. El receptor de leptina carece de dominio tirosina quinasa por lo que interacciona con quinasas citoplasmáticas, principalmente con Janus Kinase 2 (JAK2)^{39,55,56}. En lo que se refiere a la señalización activada por la leptina, se ha demostrado que sólo *Box 1* y los aminoácidos que están inmediatamente próximos, son esenciales para la activación de JAK^{57,58}. El dominio citoplasmático de todas las isoformas de OB-R posee el motivo *Box 1* para la interacción con JAK en la proximidad de la cara intracelular de la membrana, sin embargo sólo OB-Rb presenta además el motivo *Box 2* y sitios para la interacción con STAT⁵⁹. Aunque inicialmente se pensó que sólo la isoforma larga era capaz de señalizar, hoy sabemos que en algunas condiciones, la isoforma corta del receptor de leptina (OB-Ra) posee capacidad de activar determinadas vías de señalización mediadas a través de JAK2, sin necesidad de la presencia de estos motivos en su cola citoplasmática intracelular^{60,61}.

Puesto que OB-Rb carece de actividad enzimática intrínseca, la señalización a partir del mismo se produce, tras la unión a la hormona, por su interacción no covalente con JAK2, la cual se activa como consecuencia de esta interacción y fosforila a numerosos residuos de tirosina en otras proteínas, al mismo tiempo que fosforila también determinados residuos de tirosina (985 y 1138) existentes en la cola intracelular del OB-Rb funcional^{60,62,63}. Las regiones intracelulares fosforiladas de OB-Rb, fundamentalmente la tirosina 1138 (Y1138), proporcionan sitios de unión para las proteínas STAT. Diversos estudios realizados "*in vitro*" han demostrado que la leptina es capaz de activar diversas isoformas de STAT, como son, STAT1, 3 y 5, sin embargo otros trabajos realizados "*in vivo*" han demostrado que la administración intravenosa de la hormona sólo es capaz de activar a STAT3 en hipotálamo

de ratón^{64,65}. La interacción de STAT3 con la Y1138 de OB-Rb produce su activación, lo que a su vez provoca que se disocie del receptor y que forme dímeros en el citoplasma para finalmente translocarse al núcleo y regular la transcripción de genes relacionados con los efectos metabólicos de la leptina^{26,66} (Figura 3). La activación de STAT3 es probablemente un componente crucial en los efectos de regulación del peso corporal por la leptina ya que se ha observado que la eliminación del residuo Y1138 de OB-Rb en ratones (ratones *Knockout* para la Y1138 de OB-Rb) produce obesidad severa en estos animales⁶⁷. Las evidencias experimentales publicadas hasta ahora parecen demostrar que la señalización a través de STAT3 modulada por leptina es exclusiva de la isoforma larga del receptor puesto que OB-Ra carece del residuo Y1138 al que se une STAT3⁶¹. De hecho, se ha demostrado la co-localización en el núcleo arcuato del hipotálamo de OB-Rb y no de OB-Ra, con STAT3 y neuropéptidos mediadores de la acción de la leptina como NPY (Neuropéptido Y) y POMC (Propiomelanocortina)^{20,68}. Este hecho concuerda con la idea de que la leptina modula la transcripción de estos genes implicados en la regulación del apetito, al menos en parte, a través de la vía de señalización de JAK-STAT (revisado en²⁰).

En lo que se refiere a la activación de la vía de JAK/STAT en tejidos periféricos las evidencias experimentales aportadas hasta la fecha son contradictorias. Estudios realizados en roedores a los que se les administró leptina recombinante y se midió la fosforilación de STAT3 en tejidos periféricos sensibles a insulina, como el tejido adiposo blanco, músculo esquelético e hígado, no han sido capaces de demostrar que la exposición corta (3 minutos) a la hormona induzca un incremento significativo de la activación de STAT3⁶⁹. Sin embargo, otro estudio más reciente sí que ha demostrado que la leptina es capaz de activar rápidamente la fosforilación de STAT3 en músculo esquelético de ratón⁷⁰. Hasta la actualidad no existen estudios publicados sobre la potencial modulación que podría inducir el ejercicio físico sobre esta importante cascada de señalización activada por la hormona. Todo lo anteriormente comentado hace necesario pro-

fundizar en los efectos de la leptina y de la práctica regular de actividad física, en la señalización mediada por STAT3 en tejidos periféricos tan importantes para la regulación del metabolismo basal, como es el músculo esquelético.

Cascada de señalización de MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase)

Las proteínas ERK (*Extracellular Regulated Kinases*) son componentes de la cascada de señalización Ras/Raf/MAPK y son activadas por numerosos estímulos, incluyendo la leptina. La vía de MAPK puede ser activada tanto por OB-Ra como OB-Rb, aunque en menor medida por el primero^{60,62}. Aunque la parte más distal de OB-R no es necesaria para la señalización por MAPK, si que se ha demostrado que se requiere la porción intracelular intacta de la isoforma larga para obtener la máxima activación de la vía. Este fenómeno, se debe a que la leptina es capaz de inducir la activación de ERK a través de dos vías diferentes. Una vía modulada indirectamente por OB-R en la cual JAK2 una vez activa fosforila a ERK y otra mediada directamente por el receptor en la cual se produce la interacción de la fosfatasa de tirosina SHP-2 con la Y985 (previamente fosforilada por JAK2) del OB-Rb, produciéndose en última instancia la activación de ERK a través de Grb-2 (*Growth Factor Receptor Binding-2*)^{51,60} (Figura 3). ERK, una vez activada por cualquiera de las dos vías, es capaz de translocarse al núcleo desde el citoplasma para modular positivamente la expresión de determinados genes diana de la acción de la leptina, como son c-fos y egr-1, los cuales participan en proliferación celular y diferenciación³⁶. En cualquier caso, ambas vías requieren un dominio catalítico intacto de SHP-2, puesto que se ha demostrado que la pérdida de la actividad de la fosfatasa bloquea la fosforilación de ERK inducida por la leptina⁶⁶.

Existen numerosos estudios que han demostrado que la leptina es capaz de activar la cascada de MAPK “*in vivo*” e “*in vitro*”, tanto en el SNC como en tejidos periféricos implicados en la regulación de la homeostasis energética y del metabolismo basal, como son el tejido adiposo

y el músculo esquelético. En este sentido, un estudio reciente muestra que la hormona estimula la actividad de la sintasa de óxido nítrico (*NOS*) en tejido adiposo blanco a través de un complejo mecanismo que implica a PKA (*Protein Kinase A*) y a ERK1/2⁷¹. Otro estudio particularmente interesante, demuestra que cuando los mioblastos murinos C2C12 son tratados con leptina se produce un rápido incremento de la fosforilación tanto de ERK como de p38 MAPK⁷².

La práctica de actividad física también es capaz de producir cambios en el nivel de activación de esta importante vía de señalización. Investigaciones recientes han aportado evidencias experimentales que demuestran que el ejercicio produce un incremento de la fosforilación de ERK en músculo esquelético humano. Así, Creer y col. comprobaron que diez minutos después de haber realizado treinta repeticiones de un ejercicio de extensión de una pierna al 70% de su intensidad máxima, se producía un incremento significativo de la fosforilación de ERK en el vasto lateral del cuádriceps de ciclistas⁷³. Sin embargo, se desconoce cómo leptina y ejercicio pueden interactuar sobre la activación de ERK.

Vía de señalización de IRS (Insulin Receptor Substrate) / PI3K (Phospho-Inositide 3-Kinase)

PI3K representa una diana clave en las acciones de un amplio espectro de ligandos, siendo la insulina uno de los principales. De hecho, gran parte de los efectos dependientes de insulina llevan consigo la activación de PI3K. Una vez activa, PI3K es capaz de estimular la actividad de Akt (*Protein Kinase B*) y de varias isoformas de PKC (*Protein Kinase C*)⁵³. La unión de la insulina a su receptor (IR) produce el reclutamiento de varios IRSs (*Insulin Receptor Substrates*) que posteriormente son fosforilados en residuos de tirosina por la actividad quinasa intrínseca del receptor. Como consecuencia de su fosforilación, los IRSs incrementan su afinidad de unión a otras moléculas de señalización, disparando la subsiguiente activación de PI3K y de Akt (revisado en³⁶). En lo que se refiere a la leptina, actualmente sabemos que la hormona es capaz de

actuar sobre algunos componentes de la cascada de señalización por insulina, como por ejemplo IRS y PI3K, a través de OB-R. El mecanismo por medio del cual la leptina activa a PI3K ocurre a través de JAK2, la cual una vez activa es capaz de fosforilar a IRS, permitiendo en última instancia la activación de PI3K⁵⁹ (Figura 3).

La interacción de las vías de señalización activadas por IR y OB-Rb se investigó inicialmente en tejidos no neuronales. En este sentido, Kellerer y col. demostraron cómo la leptina imita los efectos de la insulina en el transporte de glucosa y en la síntesis de glucógeno a través de la vía de señalización de PI3K en los miotúbulos C2C12⁵⁹. Los autores de este estudio comprobaron que la activación de PI3K por la leptina se produce a través del sustrato IRS-2, mientras que la activación de IP3K por parte de la insulina se produce a través de ambos sustratos, IRS-1 e IRS-2⁵⁹. Estudios posteriores examinaron la posible regulación de PI3K por leptina en el hipotálamo, observando que se producía una rápida activación de la enzima, alcanzando los niveles máximos de activación dentro de los primeros 30 minutos²⁶. Otro estudio ha demostrado que OB-R e IR se expresan en células neuronales y responden a leptina e insulina con la estimulación de la actividad de PI3K aunque a través de diferentes mecanismos⁷⁴. Los datos aportados por Benomar y col. indican que la leptina activa PI3K a través de IRS-2 y la insulina a través de IRS-1. En cuanto a la potencial función de la activación de la fosforilación de PI3K inducida por leptina, parece que podría ser muy importante para la regulación del apetito modulado por la hormona, puesto que existen estudios realizados en roedores que han demostrado que la administración intracerebroventricular de inhibidores de PI3K bloquea los efectos moduladores del apetito ejercidos por la leptina^{75,76}. Por otro lado, se cree además que esta activación de PI3K puede jugar un papel clave en la modulación inducida por la hormona de la expresión de determinados neuropéptidos implicados en la regulación de la ingesta de alimentos²⁶.

En cuanto a la influencia del ejercicio físico sobre esta vía de señalización, la mayoría de los

estudios relacionados con IRS/PI3K y ejercicio en humanos hacen referencia a la activación inducida por la insulina y no a la señalización debida a la leptina⁷⁷⁻⁷⁹. Por ejemplo, Kirman y col. investigaron los efectos del ejercicio regular sobre la activación de PI3K. Para ello realizaron un estudio en el que llevaron a cabo un clamp hiperinsulinémico ($40 \text{ mU} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$) y euglicémico (5.0 mM) durante dos horas a ocho sujetos sanos entrenados y a ocho hombres y mujeres sanos sedentarios. Posteriormente, los autores analizaron la activación de PI3K mediada por IRS-1 antes y después del clamp en biopsias tomadas del vasto lateral del cuádriceps. Los resultados aportados por este estudio demostraron que la activación de PI3K fue mayor en los sujetos entrenados que en los sedentarios. El consumo máximo de oxígeno ($\text{VO}_{2\text{max}}$), indicador de la capacidad aeróbica, correlacionó positivamente con la activación de PI3K. Además, el incremento de actividad de PI3K también correlacionó positivamente con la tasa de eliminación de glucosa vía insulina. Las evidencias experimentales aportadas por esta investigación sugieren que la práctica regular de actividad física incrementa la activación de PI3K inducida por insulina y mediada por IRS-1⁷⁹, lo cual es un indicativo al menos indirecto de un aumento de la sensibilidad muscular a la hormona. Sin embargo, cabe destacar que recientemente se han publicado dos estudios que también han investigado los efectos del ejercicio físico sobre la activación mediada por insulina de PI3K y que han arrojado resultados contradictorios. Frosig y col. estudiaron este fenómeno en músculo esquelético humano estimulado con insulina y sometido a entrenamiento de resistencia. Los autores observaron que el ejercicio reducía la activación de PI3K mediada por IRS-1 tanto en condiciones basales como de estimulación con la hormona. Estas evidencias experimentales sugieren que, contrariamente a lo que se pensaba hasta el momento, este tipo de entrenamiento es incapaz de aumentar la sensibilidad a la insulina en músculo esquelético humano⁷⁷. Sin embargo, otro estudio realizado por el mismo grupo de investigación sí que ha demostrado que el ejercicio agudo interacciona con la seña-

lización activada por insulina a través de IRS-2 y PI3K para incrementar la capacidad de síntesis proteica en músculo esquelético humano, lo que sí se puede entender como un aumento de la sensibilidad a la hormona⁷⁸. A nuestro entender, los resultados aportados por este último estudio son muy relevantes puesto que existen otras investigaciones que demuestran que la leptina es capaz de inducir la activación de PI3K a través de IRS-2^{59,74}.

En conclusión, podemos decir que el fenómeno de la interacción entre las vías activadas por leptina e insulina está muy bien documentado, pero sin embargo también resulta obvio que se requieren más estudios que aporten resultados concluyentes para aclarar la importancia de esta interacción en tejidos periféricos como el músculo esquelético humano, sobre todo teniendo en cuenta el papel que juega el músculo esquelético en la sensibilidad a la insulina y en el mantenimiento de la glucemia.

La bibliografía se encuentra en la segunda parte del artículo