

SEÑALIZACIÓN DE LA LEPTINA*

María Eugenia Frigolet Vázquez Vela

RESUMEN

La obesidad es una enfermedad que forma parte del síndrome metabólico y la cual se ha descrito como un problema de salud pública en nuestro país y zonas industrializadas a nivel mundial. El entendimiento de los factores que conllevan al desarrollo de dicha enfermedad es esencial para su tratamiento. El producto del gen de la obesidad, la leptina, es el responsable de mantener el equilibrio energético en los animales. Esta revisión tiene como objeto describir la vía de señalización de la leptina y las moléculas involucradas en ella, así como determinar las perspectivas farmacológicas y nutricias para el tratamiento de la resistencia a la leptina que acompaña a la obesidad.

PALABRAS CLAVE: Obesidad, señalización, tirosina cinasa janus, transductor de señales y activador de la transcripción, supresor de la señalización por citocinas, proteína tirosina fosfatasa.

ABSTRACT

Obesity is a key factor of metabolic syndrome and has been described as a public health problem in Mexico and industrialized countries. In order to treat obesity we need to understand the risk factors involved in the development of this illness. Leptin is the obesity gene product, which is the hormone responsible for maintaining energy homeostasis. The aim of this review is to describe the signaling pathway of leptin and participant mediators, as well as to determine pharmacological and nutritional perspectives for the treatment of leptin resistance that concurs with obesity.

KEY WORDS: Obesity, signaling, Janus kinase, Signal transducer and activator of transcription, Suppressor of cytokine signaling, Protein tyrosine phosphatase.

EL GEN OB Y SU PRODUCTO, LA LEPTINA

El gen de la obesidad (OB) fue descrito por primera vez en 1950 gracias al descubrimiento de su homólogo mutado (*ob/ob*). Los defectos en los mutantes *ob* fueron entendidos de mejor manera cuando se utilizaron experimentos de parabiosis, es decir, cuando se logró una conexión parcial de los sistemas circulatorios de animales mutantes y normales. Estos ensayos dieron como resultado la normalización del peso corporal de los ratones mutantes (1).

Finalmente, el gen fue obtenido por clonación posicional y secuenciado hasta 1994 por Zhang y cols. (2). El tamaño del gen es de 4.5 kb y su producto de 167 aminoácidos con un peso de 16 kDa. La secuencia de

aminoácidos es 84% idéntica entre ratones y humanos. Para estas fechas se sabía que las mutaciones en el gen provocaban el desarrollo de obesidad debido a la sensación alterada de hambre/saciedad y aumento en el consumo de alimento; sin embargo, no estaba claro qué tejidos secretaban el producto del gen OB, que más tarde llevaría el nombre de leptina (hormona proteica). La palabra leptina es originaria del griego *leptos*, que quiere decir delgado, refiriéndose al efecto protector de la misma contra la obesidad. En 1995, utilizando la técnica de "Northern Blot", se demostró que la leptina es secretada principalmente por el tejido adiposo y por otros tejidos como placenta y ovarios en menor concentración. En el mismo año se localizó al gen OB en el cromosoma 6

de ratón, el cual es homólogo al 7q del humano (3).

Algunos trabajos posteriores dieron evidencia de la relación entre las lesiones hipotalámicas y la resistencia a la leptina, con lo que se pudo concluir que la leptina tiene su lugar de acción en el sistema nervioso central para controlar el crecimiento del tejido adiposo. Se demostró también que la administración local de leptina a regiones hipotalámicas reduce el consumo de alimento y peso corporal en animales. Actualmente se sabe que las neuronas sensibles a leptina se encuentran en los núcleos hipotalámicos dorsal, ventral, medial y premamilar, los cuales a su vez expresan neuropéptidos como el neuropéptido Y, la proteína relacionada a agouti y el elemento inducible por cocaína (4).

*Recibido: 6 de marzo de 2006 Aceptado: 6 de junio de 2006

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Depto de Fisiología de la Nutrición. Vasco de Quiroga #15 Col. Sección XVI C.P. 14000 Correo E: maru_frigolet@yahoo.com.mx

SEÑALIZACIÓN

El receptor de leptina

Así, los receptores de leptina localizados en el hipotálamo, que se encuentran codificados en el gen DB, fueron caracterizados por primera vez por Tartaglia *et al* (5). Estos receptores fueron identificados por medio de la construcción de una biblioteca de cDNA murino. El receptor, entonces, fue descrito como el que pertenece al tipo de receptores de citocinas clase I y contiene un sólo dominio transmembranal. Estos receptores tienen dominios extracelulares, constituidos por repeticiones de cuatro residuos de cisteína (6) y por cuatro arreglos estables de su estructura secundaria tipo fibronectina III (7).

Cuando se identificó el receptor de leptina, se pensó que era poco probable que se llevara a cabo la transducción de señales, pues el dominio intracelular estaba compuesto por sólo 34 aminoácidos. Sin embargo, utilizando la secuencia obtenida del receptor se pudieron identificar diferentes isoformas del mismo, incluyendo a aquella con un dominio intracelular de 303 aminoácidos (8).

Ahora se sabe que existen tres formas del receptor: la forma larga (OBR_L), la corta (OBR_S) y la soluble. La forma larga, con capacidad de transducir señales, se expresa casi exclusivamente en el hipotálamo, en donde se había pensado que tenía su acción como inductor de saciedad (9). Los receptores de leptina cortos y largos son idénticos hasta el residuo de lisina 889 y el receptor soluble es idéntico a los demás río arriba del residuo de histidina 796. Lo anterior da evidencia del procesamiento alternativo que sufre el receptor de la leptina para dar origen a diferentes formas de éste (8) (Fig. 1). Además, una mutación en el gen DB de ratón genera un codón de paro dando origen a un receptor truncado sin dominio intracelular, el cual es incapaz de provocar una señal. La

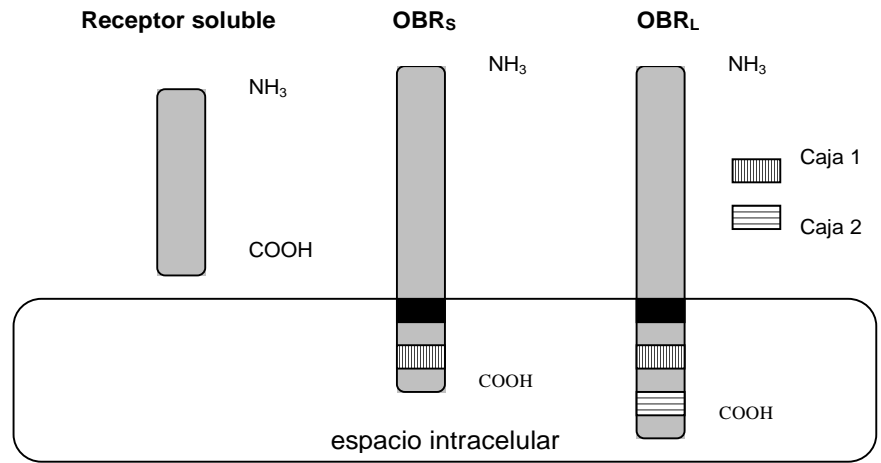


Figura 1. Las isoformas de los receptores de la leptina. Las cajas 1 y 2 contenidas en OBR_L son necesarias para la señalización de la leptina. OBR_S : receptor corto para leptina, OBR_L : receptor largo para leptina.

carencia de la señal culmina con el establecimiento de obesidad y diabetes en estos animales. El receptor corto es capaz de activar cascadas de señalización, pero su función primordial es la internalización y degradación de la leptina (10). La forma soluble del receptor tiene una gran afinidad por la leptina y se piensa que regula las concentraciones plasmáticas de la misma (11). Sin embargo, los receptores cortos y solubles al ser expresados en distintos tejidos al hipotálamo pudieran estar relacionados con eventos independientes del consumo de alimento, pues la leptina se ha visto involucrada en el control del ritmo circadiano (ciclo de aproximadamente 24 horas que regula el proceso del hambre y del sueño), maduración sexual, función renal y cardiovascular, formación de hueso, estimulación hematopoyética y actividad fagocítica de macrófagos (12).

En 1997 Devos y cols., utilizando la técnica de "crosslinking" (entrecruzamiento proteína-proteína), demostraron que la forma larga o corta del receptor de leptina forma homodímeros independientemente de la unión con su ligando. Lo anterior fue consistente con ensayos hechos previamente por Nakishima. Además, en el trabajo de Devos se habla de dos moléculas de leptina que se unen al

receptor dimerizado, o bien, unión de una molécula de leptina con una molécula de OBR con estequiometría de 1:1 (13).

Cinasa de residuos de tirosina Janus/transductor de señales y activador de la transcripción

Los receptores de leptina carecen de actividad enzimática, pero se asocian a la cinasa de residuos de tirosina Janus (Jak) (9). La familia de las cinasas Jak consiste en Jak-1, Jak-2, Jak-3 y Tyk 2, todas contienen un dominio carboxilo terminal con actividad de cinasa (14). Específicamente, el OBR se une a Jak-2 por medio de secuencias de aminoácidos específicas, o bien, las cajas 1 y 2 del receptor (Fig. 1). La caja 1, bastante conservada y rica en residuos de prolina, es indispensable para activar a Jak-2 (15).

La unión de la leptina con su receptor activa a la cinasa Jak-2, ocasionando la fosforilación de proteínas blanco contenidas en el citoplasma. La activación de las Jaks dependiente de leptina lleva consigo dos consecuencias principales: la primera es la transfosforilación de las cinasas Jaks y la segunda es la fosforilación de ciertos residuos de tirosina en el receptor. Son estas fosforilaciones las que proveen un sitio de anclaje para otras

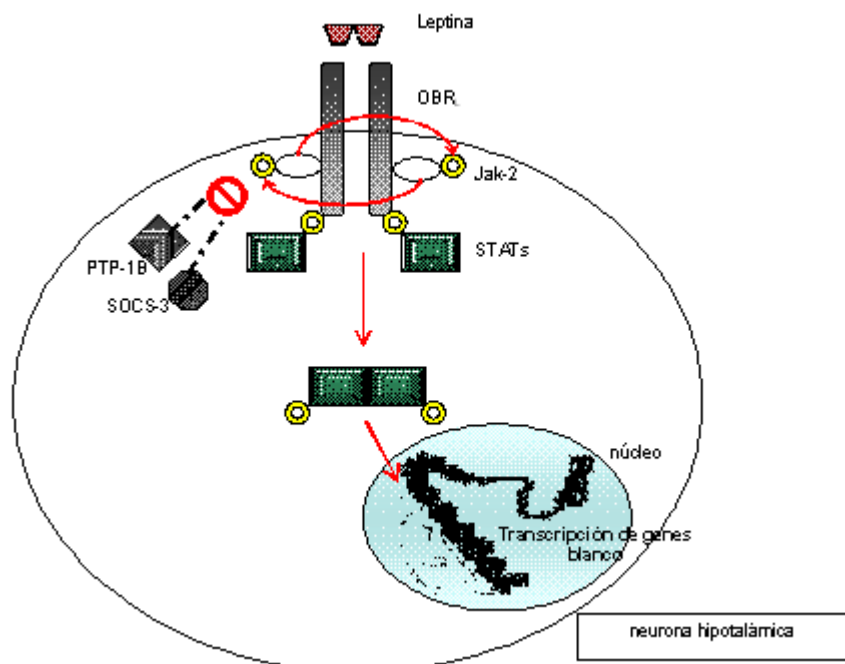


Figura 2. Modelo integrativo de la señalización de la leptina. La leptina se une a su receptor provocando la transfosforilación de Jak-2 y el anclaje y fosforilación de STAT-3. STAT-3, posteriormente, promueve la transcripción de genes blanco. SOCS-3 y PTP-1B actúan inhibiendo la fosforilación de Jak-2 e impidiendo la señalización de la leptina. Los anillos representan a los grupos fosfato. OBR_L: receptor largo para leptina, Jak-2: cinasa de residuos de tirosina Janus-2, STAT: transductor de señales y activador de la transcripción, PTP-1B: proteína fosfatasa de residuos de tirosina-1B, SOCS-3: supresor de la señalización por citocinas-3.

moléculas, entre las que se encuentra el factor de transcripción STAT (transductor de señales y activador de la transcripción) (16).

Entonces, las proteínas STAT que han sido reclutadas son fosforiladas en residuos de tirosina por las cinasas Jak. Lo anterior precede a la disociación de STAT del receptor y la formación de heterodímeros u homodímeros. Los dímeros de STAT son capaces, a su vez, de translocarse al núcleo y actuar como factores de transcripción, gracias a su unión con elementos de respuesta de los promotores de algunos genes como supresor de la señalización por citocinas-3 (SOCS-3) (17) (Fig. 2).

En cuanto al OBR y su relación con STAT se ha visto que el OBR_S es incapaz de activar proteínas STAT por lo que la disminución en la expresión de OBR_L es suficiente para el desarrollo del fenotipo *db/db*. Además, aplicando la técnica EMSA (ensayos

de retardo de la movilidad en geles) se demostró que OBR_L unido a su ligando activa a STAT-3, 5 y 6, pero no a STAT-1 ni 4 (9).

Supresor de la señalización por citocinas-3

La señalización de la leptina puede ser bloqueada por el supresor de la señalización por citocinas-3 (SOCS-3) (18). Esta molécula es miembro de la familia de proteínas con dominios SH2 (dominios que contienen sitios específicos de unión para residuos de tirosina fosforilados). La proteína SOCS está compuesta por una región amino terminal variable, un dominio central SH2 y un dominio carboxilo terminal llamado caja SOCS. La región central SH2 no es suficiente para inhibir la señal Jak-STAT; la región amino terminal también es necesaria para lograr esto (19). SOCS funciona, aparentemente, uniéndose a Jak-2 sólo si la leptina se encuentra presente. La unión de

SOCS-3 con Jak-2 inhibe la autofosforilación de la cinasa y la fosforilación del receptor (20) (Fig. 2). Por la función que desempeña como inhibidor de la señalización de la leptina, SOCS-3 es posiblemente responsable de la resistencia a la leptina, como se explica a continuación. La hiperleptinemia que acompaña a la obesidad incrementa la expresión hipotalámica de SOCS-3 dando lugar a una reducción en la sensibilidad a la leptina (20) y el consecuente establecimiento de la resistencia a la leptina.

Proteína fosfatasa de residuos de tirosina

Otra molécula que funciona como regulador negativo de la señalización de la leptina por medio de Jak-STAT es PTP-1B (proteína fosfatasa de residuos de tirosina 1B) (Fig. 2). La familia de PTPs en los mamíferos incluye a la fecha, de 50 a 60 miembros. Estas proteínas tienen un dominio catalítico compuesto por 250 a 300 aminoácidos, el cual se mantiene conservado con un porcentaje del 30% entre los miembros de esa familia (21). En el 2002 se demostró por primera vez el mecanismo de acción de PTP-1B sobre la actividad de la leptina. Para lograrlo, se administró leptina a ratones mutantes para el gen OB (*Lep^{ob/ob}*) y para el gen PTP-1B, encontrando mayor sensibilidad a la hormona en estos animales. La explicación de este fenómeno se dio por medio de la utilización de un mutante de la fosfatasa con actividad catalítica disminuída, pero capaz de unirse a su sustrato. Finalmente, quedó claro, usando la técnica de inmuno-precipitación, que Jak-2 es sustrato de PTP-1B cuando la leptina está presente. Asimismo, los ratones mutantes nulos para PTP-1B tienen mayor estado de fosforilación de STAT-3 y sufren mayor pérdida de peso.

Relación insulina/leptina

La insulina, al igual que la leptina, es

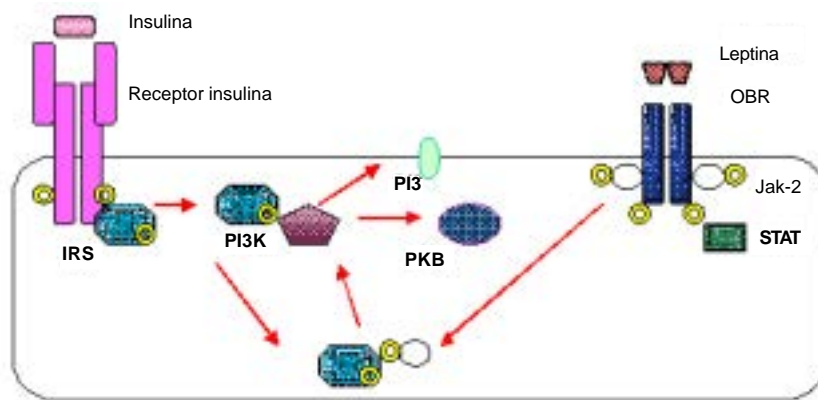


Figura 3. Señalización compartida por insulina y leptina. La insulina unida a su receptor causa fosforilación del mismo receptor provocando la unión de IRS, éste activa a PI3K, el cual convierte fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato a PI3 y activa a PKB. Estas reacciones culminan con la translocación del transportador de glucosa. IRS es sustrato de Jak-2 por lo que la leptina tiene efecto sobre la señalización de la insulina. OBR: receptor para leptina, Jak-2: cinasa de residuos de tirosina Janus-2, STAT: transductor de señales y activador de la transcripción, IRS: sustrato del receptor de insulina, PI3K: cinasa-3 de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato, PI3: fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato, PKB: proteína cinasa B.

una hormona que regula el estado energético de los animales. Se sabe que los adipocitos en cultivo, estimulados con insulina, liberan mayores concentraciones de leptina (22).

El receptor de insulina es un dímero, unido por un puente disulfuro, que consta de una subunidad α y una β . Cuando éste se une a la insulina el receptor se autofosforila creando un sitio de unión para IRS (sustrato del receptor de insulina) y el último activa a PI3K (cinasa-3 de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato). Esta enzima consta de una subunidad p85 y una subunidad p110 (por sus pesos moleculares en kDa). La activación de PI3K sucede cuando p85 se une a un residuo de tirosina fosforilado de IRS. Una vez activa, PI3K cataliza la fosforilación de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato a fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PI3) y activa a PKB (proteína cinasa B) (Fig. 3), reacciones que culminan con diferentes respuestas como supervivencia celular y translocación del transportador de glucosa en la célula (23).

Asimismo, la forma larga del receptor de la leptina tiene la capacidad de activar las vías dependientes de Jak/STAT y MAPK (proteína cinasa activada por mitógeno), además de es-

timular la fosforilación de residuos de tirosina de IRS (7). Si IRS, como se afirma, es un sustrato de Jak, entonces se tiene evidencia de que leptina e insulina comparten rutas para propagar la señalización (Fig 3).

Al respecto, Kim y cols. demostraron que después de la inyección intravenosa de leptina a ratas se incrementa la fosforilación de STAT-3, STAT-1 y MAPK en tejidos sensibles a la insulina como hígado y tejido adiposo. Además, la actividad de cinasa de PI3K asociada con IRS-1 se incrementa en el tejido adiposo cuando hay estimulación por leptina (24). También se sabe que la adición de hepatocitos incrementa la actividad de PI3K y PKB. El incremento se logra por medio de IRS-1 e IRS-2, los cuales asociados a PI3K, por medio de p85, son responsables del aumento en la actividad de las cinasas mencionadas. La leptina, al igual que la insulina, activa a la fosfodiesterasa 3B (PDE3B) a través de PI3K. La enzima PDE3B está encargada de revertir la ciclización de AMP, por lo que la leptina e insulina reducen la acumulación de cAMP por medio de PDE3B dependiente de PI3K (25).

PERSPECTIVAS

Como se explicó, la resistencia a la leptina en obesos con hiperleptinemia es la causa de la falla en la terapia contra la obesidad utilizando leptina. Se entiende que las hormonas y las cinasas de las vías de las mismas hormonas, como tratamiento farmacológico, no son suficientes para resolver un padecimiento como es, en este caso, la obesidad. Se tendría que tener en cuenta, también, la posibilidad de inhibir a SOCS, PTP, o moléculas que revierten la actividad de las hormonas a estudiar.

Además de la posible terapia farmacológica, es también importante estudiar la influencia de la dieta sobre la acción de la leptina y su receptor como posible prevención a la resistencia a la leptina. Así, las dietas crónicas altas en lípidos pueden tener consecuencias como el desarrollo de obesidad, hiperleptinemia y resistencia a la leptina. Esto se explica por una menor concentración de la expresión de receptores de leptina en el hipotálamo de animales consumiendo dietas con alto contenido de grasa.

También, la composición de ácidos grasos en la dieta podría afectar la acción de la leptina mediante su receptor, pues se ha visto que la concentración de ácidos grasos insaturados en la dieta influye negativamente en la producción de citocinas (26). La producción de cAMP tiene, de igual forma, relación con la composición lipídica de la dieta. La molécula de cAMP tiene la capacidad de interrumpir la señalización por medio de Jak/STAT y de inhibir la fosforilación de STAT-3 (27). Así, la ingestión en exceso de ácidos grasos saturados aumenta la producción de cAMP. Por lo anterior, es necesario conocer mejor la influencia de la dieta sobre la acción de la leptina y desarrollar estrategias que ayuden a la prevención y tratamiento de la obesidad.

Agradecimientos. Este trabajo se realizó como parte del curso Transducción de Señales que imparte la Dra. Ma. Eugenia Torres-Márquez.

REFERENCIAS

1. Coleman DL (1973) Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. *Diabetologia* 9: 294-298
2. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.
3. Green ED, Maffei M, Braden VV, Proenca R, DeSilva U, Zhang Y, Chua SC Jr, Leibel RL, Weissenbach J, Friedman JM (1995) The human obese (OB) gene: RNA expression pattern and mapping on the physical, cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. *Genome Res* 5: 5-12.
4. Bjorbaek C, Uotani S, da Silva B, Flier JS (1997) Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J Biol Chem* 272: 32686-32695.
5. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI (1995) Identification and expression cloning of a leptin receptor, ObR. *Cell* 83: 1263-1271.
6. Bazan JF (1990) Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 6934-6938.
7. Heim MH (1996) The Jak-STAT pathway: specific signal transduction from the cell membrane to the nucleus. *Eur J Clin Invest* 26: 1-12.
8. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JM (1996) Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 379: 632-635.
9. Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH, Skoda RC (1996) Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 6231-6235.
10. Uotani S, Bjorbaek C, Tornoe J, Flier JS (1999) Functional properties of leptin receptor isoforms. *Diabetes* 48: 279-286.
11. Chan JL, Bluher S, Yiannakouris N, Suchard MA, Kratzsch J, Mantzoros CS (2002) Regulation of circulating soluble leptin receptor levels by gender, adiposity, sex steroids, and leptin: observational and interventional studies in humans. *Diabetes* 51: 2105-2112.
12. Wauters M, Considine R, Van Gaal LF (2000) Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol* 143: 293-311.
13. Devos R, Guisez Y, Van der Heyden J, White DW, Kalai M, Fountoulakis M, Plaetinck G (1997) Ligand-independent dimerization of the extracellular domain of the leptin receptor and determination of the stoichiometry of leptin binding. *J Biol Chem* 272: 18304-18310.
14. Ihle JN (1995) Cytokine receptor signaling. *Nature* 377: 591-594.
15. Bahrenberg G, Behrmann I, Barthel A, Hekerman P, Heinrich PC, Joost HG, Becker W (2002) Identification of the critical sequence elements in the cytoplasmatic domain of leptin receptor isoforms required for Janus kinase/signal transducer and activator of transcription activation by receptor heterodimers. *Mol Endocrinol* 16: 859-872.
16. Bates S, Myers M (2004) The role of leptin-STAT 3 signaling in neuroendocrine function: an integrative perspective. *J Mol Med* 82: 12-20.
17. Bendinelli P, Maroni P, Pecori Giralardi F, Piccoletti R (2000) Leptin activates Stat3, Stat1, and AP-1 in mouse adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol* 168: 11-20.
18. Endo TA, Masuhara M, Yokouchi M, Suzuki R, Sakamoto H, Mitsui K (1997) A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases. *Nature* 387: 921-924.
19. Nicholson SE, Wilson TA, Farley A, Starr R, Zhang JG (1999) Mutational analyses of the SOCS proteins suggest a dual domain requirement but distinct mechanisms for inhibition of LIF and IL-6 signal transduction. *EMBO J* 18: 375-385.
20. Bjorbaek C, El-Haschimi K, Frantz JD, Flier JS (1999) The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. *J Biol Chem* 274: 30059-30065.
21. Espanel X, Walchli S, Gobert RP, El Alama M, Curchod ML, Gullu-Isler N, van Huijsduijnen RH (2001) Pulling strings below the surface. *Endocrine* 15: 19-28.
22. Barr VA, Malide D, Zarnowski MJ, Taylor SI, Cushman SW (1997) Insulin stimulates both leptin secretion and production by rat white adipose tissue. *Endocrinology* 138:4463-4472.
23. Niswender KD y Schwartz M (2003) Insulin and leptin revisited: adiposity signals with overlapping physiological and intracellular signaling capabilities. *Front neuroendocrinol* 24:1-10.
24. Kim JB, Uotani S, Pierroz D, Flier J, Kahn B (2000) In vivo administration of leptin activates signal transduction directly in insulin-sensitive tissues: overlapping but distinct pathways from insulin. *Endocrinology* 141:2328-2339.
25. Plum L, Schubert M, Brüning J (2005) The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab* 16: 59-65.
26. Tappia PS, Ladha S, Clark DC, Grimble RF (1997) The influence of membrane fluidity, TNF receptor binding, cAMP production and GTPase activity on macrophage cytokine production in rats fed a variety of fat diets. *Mol Cell Biochem* 166:135-143.
27. Sengupta TK, Schmitt EM, Ivashkiv LB (1996) Inhibition of cytokines and JAK-STAT activation by distinct signaling pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:9499-9504.