



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultad de ciencias

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

APELINA EN LA OBESIDAD Y EL SÍNDROME METABÓLICO

Jaume Borràs Cabot

Grado de Bioquímica

Año académico 2015-16

DNI del alumno: 43183678M

Trabajo tutelado por M. Luisa Bonet Piña
Departamento de Biología, Biología Fundamental y Ciencias de la Salud, Física, Química.

Se autoriza a la Universidad a incluir este Trabajo en el Repositorio Institucional para su consulta en acceso abierto y difusión en línea, con finalidades exclusivamente académicas y de investigación.	Autor		Tutor	
	Si	No	Si	No
	X		X	

Palabras clave del trabajo:

Apelina, obesidad, síndrome metabólico, adiposidad.

INDICE

1.	OBJETIVO.....	4
2.	METODOLOGÍA.....	4
3.	INTRODUCCIÓN AL SISTEMA APELINA/APJ.....	5
4.	APELINA Y OBESIDAD	6
4.1	CAMBIOS EN LA PRODUCCIÓN DE APELINA COMO ADIPOQUINA EN LA OBESIDAD	7
4.2	EFFECTO ANTI-OBESIDAD DE LA APELINA: EVIDENCIA EXPERIMENTAL.....	8
4.3	MECANISMOS IMPLICADOS EN EL EFECTO ANTI-OBESIDAD DE LA APELINA	9
4.3.1	EFFECTOS SOBRE EL APETITO.....	9
4.3.2	ACTIVACIÓN DE LA BIOGÉNESIS MITOCONDRIAL EN MÚSCULO ESQUELÉTICO	11
4.3.3	ACTIVACIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO MARRÓN Y DE LA MARRONIZACIÓN (<i>BROWNING</i>) DEL TEJIDO ADIPOSO BLANCO.....	12
4.3.4	INHIBICIÓN DE LA ADIPOGÉNESIS EN EL TEJIDO ADIPOSO BLANCO	14
4.3.5	ESTABILIZACIÓN DE LOS VASOS LINFÁTICOS Y SANGUÍNEOS	15
5.	PAPEL DE LA APELINA EN LA MODULACIÓN DE LAS COMPLICACIONES METABÓLICAS DE LA OBESIDAD.....	16
5.1	APELINA EN LA REDUCCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS).....	16
5.2	APELINA EN LA MODULACIÓN DE LA DISLIPIDEMIA ASOCIADA A LA OBESIDAD	18
5.3	APELINA EN LA MODULACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y LAS ALTERACIONES DE LA HOMEOSTASIA DE LA GLUCOSA ASOCIADA A LA OBESIDAD	19
6.	APELINA EN LA OBESIDAD HUMANA	20
7.	RESUMEN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO	21
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	23
	ANEXO	27

1. OBJETIVO

La obesidad es un estado caracterizado por un exceso de acumulación de grasa corporal que está estrechamente relacionado con el síndrome metabólico y otros problemas de salud. Alteraciones genéticas o adquiridas de múltiples procesos bioquímicos pueden contribuir o incluso ser un factor determinante en el curso del desarrollo de la obesidad. Conocer de qué forma se regulan dichos procesos resulta de gran interés, debido a la posibilidad de elaborar nuevas estrategias para el control de la obesidad y sus consecuencias dañinas para el organismo. El tejido adiposo es una fuente de señales reguladoras imprescindibles en el entramado del metabolismo energético, destacando el grupo de proteínas llamadas adipoquinas, entre las cuales se incluye la apelina.

La apelina es un péptido producido por diferentes tipos celulares originalmente conocido por sus notables efectos fisiológicos sobre el sistema cardiovascular. Más recientemente, diferentes líneas de investigación han revelado nuevos datos sobre el papel de la apelina como adipoquina y sus efectos sobre el metabolismo energético.

El principal objetivo de esta revisión bibliográfica es la búsqueda de información sobre la conexión de la apelina con la obesidad y el síndrome metabólico, las claves biológicas que explican dicha relación y la evidencia científica que la sustenta, es decir, estudios bioquímicos, fisiológicos y genéticos en modelos celulares, animales y humanos publicados hasta el momento. Asimismo, presentaremos diversas perspectivas de futuro en relación al tema en cuestión, incluyendo posibles implicaciones terapéuticas, lagunas de conocimiento existentes y finalmente, propuestas de nuevos estudios con el fin de solventarlas.

2. METODOLOGÍA

Para la elaboración de este trabajo, se ha realizado una búsqueda de estudios y artículos científicos con el objetivo de extraer la máxima información respecto al papel de la apelina en el metabolismo energético asociado con la obesidad y el

síndrome metabólico. Para ello, se ha utilizado la base de datos científicos NCBI (PubMed).

En una primera búsqueda, se introdujeron los siguientes términos clave: “*Apelin AND obesity*” y “*apelin AND metabolic syndrome*”. Los resultados en los que aparecen dichos términos en el título del artículo o revisión fueron 20 y 5, respectivamente. Para la realización de este trabajo, primero se consultaron estos trabajos, entre ellos varias revisiones (Bertrand, Valet, & Castan-Laurell, 2015; Castan-Laurell et al., 2011; Chapman, Dupre, & Rainey, 2014), A partir de aquí, se accedió a los artículos originales que se consideraron más relevantes y procedió a la búsqueda de información adicional, dirigida a la relación entre la apelina y diversos términos clave referentes al tema a desarrollar, como por ejemplo: *adiposity, energy metabolism, food intake, diabetes*, entre otros.

Se ha elaborado un listado de los artículos originales de investigación más relevantes consultados, incluyendo autor y año, número PMID, modelo experimental y principales conclusiones (*Anexo 1*).

3. INTRODUCCIÓN AL SISTEMA APELINA/APJ

La apelina fue identificada en 1998 como el ligando del receptor APJ, un receptor acoplado a proteínas G hasta entonces huérfano. El gen de la apelina en humanos se encuentra localizado en el cromosoma X en el locus Xq25-q26.3 (Lee et al., 2000; Tatemoto et al., 1998) y codifica para una pre-proteína de 77 aminoácidos. El péptido de la apelina contiene aminoácidos básicos en varias posiciones, estos aminoácidos representan posibles puntos de escisión proteolíticos susceptibles al ataque por endopeptidasas, las cuales dan lugar a varios fragmentos bioactivos carboxi-terminales, incluyendo la apelina-36, 17, 13 y la pyr-apelina-13 (con ácido piroglutámico en el extremo amino). El gen humano codificante del receptor APJ se encuentra en el cromosoma 11 en el locus 11q12 (Lee et al., 2000).

Tanto la apelina como su receptor se expresan en multitud de tejidos, incluyendo corazón, estómago, músculo esquelético, tejido adiposo y regiones del cerebro, como el hipotálamo (Carpene et al., 2007). La apelina fue catalogada como

adipoquina en el 2005, cuando se demostró su expresión y secreción por el tejido adiposo (Boucher et al., 2005) y a partir de aquí se ha intensificado la investigación sobre sus efectos sobre el metabolismo energético.

El sistema apelina/APJ ejerce sus efectos metabólicos mediante diversas vías de transducción de señales, notablemente la vía de la AMPK (kinasa dependiente de AMP) y la vía PI3K/Akt (fosfatidilinositol-3-kinasa/Akt) (Bertrand et al., 2015). Promoviendo así la oxidación de ácidos grasos en el músculo esquelético, la biogénesis mitocondrial, la captación y el consumo de glucosa, e inhibiendo la lipólisis y la secreción de insulina (Attane et al., 2011; Attane et al., 2012; Zhu et al., 2011) (Figura 1).

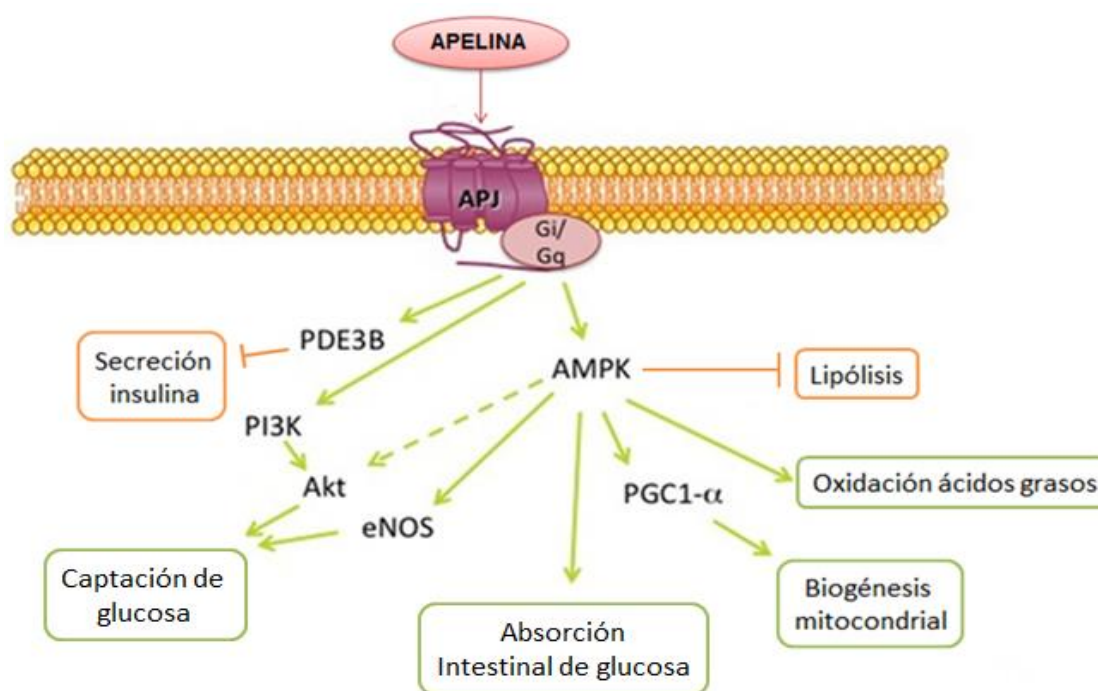


Figura 1. Principales vías de señalización y efectos metabólicos de la apelina. Las líneas verdes indican activación y las naranjas inhibición. Adaptado de (Bertrand et al., 2015)

4. APELINA Y OBESIDAD

La obesidad resulta de un desequilibrio sostenido en el tiempo entre la ingesta y el gasto energético. Actualmente la obesidad se considera el producto de la interacción entre una serie de factores, genéticos, ambientales y psicosociales, que actúan a

través de mediadores moduladores fisiológicos de la ingesta y el gasto energético, alterándolos.

Aspectos clave para el mantenimiento del peso corporal habitualmente alterados en la obesidad son el control del comportamiento alimentario/apetito y el control del gasto energético, que comprende el metabolismo basal, la actividad física y la termogénesis adaptativa. Esta última se refiere a la oxidación ineficiente regulada de combustibles para producir calor, mediada por la actividad de proteínas desacoplantes (UCPs) o por la activación de ciclos fútiles. Otros aspectos importantes son el control de la distribución de nutrientes entre los diversos tejidos y el control local del tejido adiposo, tanto del número de adipocitos como de su tamaño y perfil metabólico. Desequilibrios entre la ingesta y el gasto energético en favor de la ingesta, favorecen la adipogénesis y la hipertrofia de los adipocitos. Consecuentemente, señales hormonales y pro-inflamatorias producidas por el tejido adiposo obeso contribuyen a diferentes trastornos metabólicos y patologías asociadas a la obesidad.

4.1 Cambios en la producción de apelina como adipoquina en la obesidad

Los niveles de apelina se encuentran frecuentemente elevados en la circulación y en el tejido adiposo blanco en la obesidad en humanos y en modelos animales de obesidad (Castan-Laurell et al., 2011). También es conocido que la expresión de apelina aumenta durante la diferenciación de preadipocitos en cultivo en células adiposas maduras (adipogénesis) (Castan-Laurell et al., 2011).

Diferentes estudios demuestran que condiciones que concurren en el tejido adiposo blanco obeso (incremento de los niveles de citoquinas proinflamatorias como el $\text{TNF}\alpha$, hipoxia) favorecen la producción de apelina en los adipocitos blancos. La producción incrementada de apelina podría servir como un mecanismo para contrarrestar la obesidad, ya que, como veremos a continuación, la apelina ejerce toda una serie de efectos que pueden considerarse anti-obesidad. No obstante, también se ha propuesto que la apelina, vía su efecto potenciador de la angiogénesis, podría favorecer la expansión del tejido adiposo blanco bajo condiciones obesogénicas (Glassford et al., 2007; Kunduzova et al., 2008).

4.2 Efecto anti-obesidad de la apelina: evidencia experimental

Los efectos anti-obesidad de la apelina principalmente se han demostrado mediante estudios experimentales basados en modelos animales (ratones) a los que se ha administrado apelina. Este tipo de estudios se han llevado a cabo en animales normopeso y animales con obesidad inducida mediante dieta rica en grasas. La implicación de la apelina en el control del nivel de reservas grasas también se deduce del fenotipo de ratones knockout para apelina, que no la expresan, y ratones transgénicos con sobreexpresión de apelina.

Los resultados de estudios de intervención en animales señalan un efecto anti-obesidad de la apelina cuando es administrada por vía periférica (Castan-Laurell et al., 2011). Por ejemplo, la administración intraperitoneal diaria durante dos semanas de apelina ($0.1 \mu\text{mol/kg}\cdot\text{d}$) en ratones sanos no obesos resultó en una disminución de los niveles de triglicéridos en el tejido adiposo y la pérdida significativa de masa grasa en los ratones tratados respecto a los no tratados. (Higuchi et al., 2007). Asimismo, hay estudios sobre el efecto anti-obesidad de la apelina en animales con desórdenes metabólicos asociados a la obesidad (Attane et al., 2012; Higuchi et al., 2007). Dichos modelos animales exhiben un estado obeso, con hiperinsulinemia y resistencia insulínica, inducido mediante una dieta con un alto contenido en grasas durante un tiempo prolongado (varias semanas). En general, los resultados de estos estudios revelan que el tratamiento con apelina reduce la obesidad y mejora los parámetros metabólicos (Attane et al., 2012; Higuchi et al., 2007) (*Figura 2*).

Los ratones transgénicos con sobreexpresión de apelina exhibieron resistencia frente al desarrollo de la obesidad inducida mediante la dieta, incrementando la temperatura corporal y el consumo de oxígeno, sin variar de forma significativa su ingesta (Yamamoto et al., 2011). Dicha resistencia se vio acompañada de un aumento en la biogénesis mitocondrial en el músculo esquelético. Recíprocamente, ratones knockout para la apelina presentaron un incremento de la adiposidad abdominal y de los niveles circulantes de ácidos grasos libres. El tratamiento de estos animales con dosis exógenas de apelina durante dos semanas resultó en una notable disminución de ambos parámetros, sugiriendo así

un efecto anti-obesidad y de regulación de la lipólisis por parte de la apelina (Yue et al., 2011) (véase el apartado 5.2).

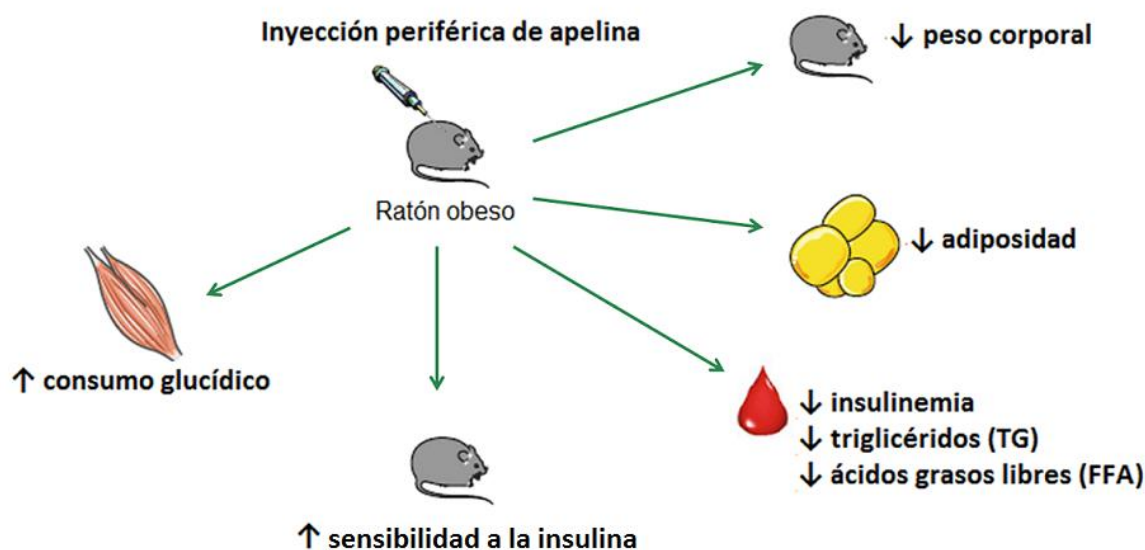


Figura 2. Efectos metabólicos del tratamiento con apelina suministrada de forma intravenosa o intraperitoneal en ratones obesos. Adaptado de (Castan-Laurell et al., 2011)

4.3 Mecanismos implicados en el efecto anti-obesidad de la apelina

4.3.1 Efectos sobre el apetito

Varios descubrimientos sugieren que el sistema apelina/APJ podría estar implicado en la modulación del comportamiento alimentario, regulando el apetito. El ARNm correspondiente al receptor APJ ha sido localizado en varios sitios del hipotálamo implicados en la regulación del comportamiento alimentario y el metabolismo energético (De Mota, Lenkei, & Llorens-Cortes, 2000).

Diversos estudios han examinado los efectos de la administración central de apelina sobre la ingesta con resultados contradictorios. Por ejemplo, en un estudio la apelina inyectada por vía intracerebroventricular (icv) a ratas redujo la ingesta durante el periodo nocturno, pero incrementó la ingesta en el periodo diurno (O'Shea, Hansen, Tatemoto, & Morris, 2003). También hay estudios en que no se

observa ningún efecto sobre la ingesta (Taheri et al., 2002) o en que se observa un efecto estimulador de la ingesta (Valle, Hoggard, Adams, Roca, & Speakman, 2008).

Más recientemente, un estudio en ratones mostró una disminución de la ingesta durante el período de oscuridad tras la administración icv de apelina, tanto en ratones obesos como en ratones alimentados de forma estándar, sin diferencias significativas entre la ingesta de los animales tratados y los controles durante el periodo de luz (S. Y. Lv et al., 2012). Además, hay investigaciones que indican una inhibición del vaciamiento gástrico y del tránsito intestinal como consecuencia del tratamiento icv con apelina-13 (S. Y. Lv, Yang, Qin, Xiong, & Chen, 2011), que contribuiría a aumentar la saciedad, ya que existe una estrecha relación entre la motilidad gastrointestinal y el apetito. En este mismo trabajo se usó un antagonista del receptor APJ, el compuesto apelina-13(F13A), para estudiar si el efecto inhibidor de la apelina-13 sobre la ingesta se encuentra mediado por la activación de APJ. Los resultados mostraron que la administración de apelina-13(F13A) por sí sola no repercute en el comportamiento alimentario, pero que inhibe efectivamente el efecto anoréctico de la apelina-13 (S. Y. Lv et al., 2011).

El efecto anoréctico de la apelina-13 ha sido relacionado con su acción sobre el sistema de la corticotropina, ya que resulta antagonizado por antagonistas del receptor del factor liberador de corticotropina (CRF) (S. Y. Lv et al., 2012). Previamente, se había demostrado que el receptor APJ se expresa en neuronas del hipotálamo secretoras de CRF y que la apelina-13 estimula la secreción de CRF en explantes de hipotálamo *ex vivo* (Taheri et al., 2002). Además, se sabía por estudios anteriores que la inyección icv de CRF reduce la ingesta en ratones. Todos estos resultados, en su conjunto, han llevado a proponer la siguiente hipótesis: la administración icv de apelina activa el receptor APJ y de forma paralela induce la secreción de CRF endógena, lo que, debido a los efectos sobre el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal, resulta en una reducción de la ingesta (S. Y. Lv et al., 2012).

En todo caso, debe haber otros mecanismos implicados en el efecto anti-obesidad de la apelina aparte de la inhibición de la ingesta, ya que hay estudios que muestran que la administración intraperitoneal de apelina reduce la adiposidad y la ganancia de peso corporal sin afectar la ingesta (Higuchi et al., 2007).

4.3.2 Activación de la biogénesis mitocondrial en músculo esquelético

Diversas investigaciones sugieren que la apelina juega un papel en la regulación del metabolismo del músculo esquelético. Por ejemplo, el tratamiento de forma crónica con apelina mediante inyección intravenosa o intraperitoneal aumenta la β -oxidación de los ácidos grasos en el músculo en ratones obesos, a la vez que reduce la obesidad y mejora los parámetros metabólicos (Attane et al., 2012). Hay estudios que demuestran un incremento de los marcadores mitocondriales en el músculo esquelético tras el tratamiento crónico *in vivo* intraperitoneal con apelina (Frier, Williams, & Wright, 2009). Además, se ha observado un incremento de la vasculatura muscular y de la biogénesis mitocondrial en el tejido muscular esquelético de ratones transgénicos que sobre-expresan la apelina, que son resistentes al desarrollo de obesidad inducida mediante la dieta (Yamamoto et al., 2011).

La apelina activa la vía de señalización de la AMPK (Dray et al., 2008), la cual se sabe que regula de forma positiva la actividad del coactivador transcripcional PGC-1 α , que es un importante factor estimulador de la biogénesis mitocondrial, ya que coactiva diversos factores de transcripción implicados en este proceso. Sin embargo, el aumento de la biogénesis mitocondrial en el tejido muscular provocado por la apelina parece ser un proceso independiente de la activación de la AMPK y del factor PGC-1 α (Frier et al., 2009). No obstante, otro miembro de la familia, el PGC-1 β , aumenta su expresión en músculo en respuesta al tratamiento con apelina (Frier et al., 2009). Aunque ambas isoformas de PGC-1 regulan una gran variedad de genes de forma indistinta, PGC-1 α y PGC-1 β son estimulados mediante mecanismos distintos.

No se conoce bien el mecanismo responsable de la sobreexpresión de PGC-1 β en músculo inducida por apelina. Se ha propuesto un mecanismo mediado por la adiponectina, ya que los niveles plasmáticos de adiponectina se ven aumentados de forma significativa tras la administración crónica de apelina en ratones obesos (Higuchi et al., 2007), y estudios previos han sugerido que la adiponectina juega un papel en el mantenimiento del contenido mitocondrial en el músculo esquelético (Frier et al., 2009).

En conclusión, no hay dudas sobre el efecto de la apelina de aumentar la biogénesis mitocondrial en el músculo esquelético, pero el mecanismo que hace posible este efecto todavía no se conoce bien.

4.3.3 Activación del tejido adiposo marrón y de la marronización (*browning*) del tejido adiposo blanco

La termogénesis en el tejido adiposo marrón es el mecanismo mejor conocido de la termogénesis adaptativa. Recientemente, ha resurgido el interés en el tejido adiposo marrón tras demostrarse que, contrariamente a lo que se venía asumiendo, los humanos adultos poseemos grasa marrón funcional, y en cantidad inversamente proporcional al índice de masa corporal y otros parámetros biométricos relacionados con la obesidad (Kajimura & Saito, 2014). Además, se ha demostrado, principalmente en roedores, que el tejido adiposo blanco puede adquirir características de la grasa marrón en respuesta a diferentes estímulos.

Este proceso, denominado de marronización (*browning* en inglés) de marronización parece que incluiría un incremento de la adipogénesis marrón o beige en el seno de los depósitos grasos (a partir de células precursoras particulares residentes) y la transformación de los adipocitos blancos en adipocitos con mayor capacidad oxidativa y termogénica (Harms & Seale, 2013). Ambos procesos, activación del tejido adiposo marrón y marronización de la grasa blanca, se oponen al desarrollo de la obesidad mediante el incremento del gasto de energía, y contrarrestan los efectos del exceso de tejido adiposo blanco, como puede ser la resistencia a la insulina en tejidos periféricos (Bartelt & Heeren, 2014). El sistema apelina/APJ es funcional en los tejidos adiposos blanco y marrón.

Durante el desarrollo de la obesidad, el tejido adiposo sufre un estado de inflamación crónica de bajo grado, observándose la infiltración de macrófagos. El incremento del número total de macrófagos conlleva la liberación de factores proinflamatorios, como el TNF α , que contribuyen al desarrollo de la resistencia a la insulina y otras alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad (Heilbronn & Campbell, 2008). Recientemente, se ha visto que las citoquinas proinflamatorias como el TNF α pueden inhibir la adipogénesis marrón (Sakamoto et al., 2013).

Estudios iniciales mostraron un aumento de la expresión de la proteína desacoplante 1 (UCP1) en tejido adiposo marrón en respuesta al tratamiento intraperitoneal con apelina, tanto en ratones normopeso como obesos, acompañado de un aumento de la temperatura corporal y de la oxidación de ácidos grasos (Higuchi et al., 2007). La UCP1 es crítica para la actividad termogénica. El efecto sobre la UCP1 se atribuyó al incremento de adiponectina que acompaña al tratamiento con apelina, ya que la adiponectina estimula la expresión de UCP1 en tejido adiposo marrón (Masaki et al., 2003). También se consideraron posibles efectos de la apelina a nivel central, ya que la administración periférica de apelina provoca un incremento de los niveles de apelina en el hipotálamo (Higuchi et al., 2007), demostrando así, la capacidad de la apelina para atravesar la barrera hematoencefálica y ejercer sus efectos a nivel central, y la expresión de UCP1 en el tejido adiposo marrón se encuentra regulada por el sistema nervioso simpático. También se ha descrito que la administración central de apelina en ratas incrementa la temperatura corporal, lo que concuerda con una estimulación de la termogénesis (Jaszberenyi, Bujdoso, & Telegdy, 2004).

Más recientemente, se ha descrito que la apelina estimula la adipogénesis marrón y contrarresta la inhibición de la adipogénesis marrón por TNF α en preadipocitos marrones primarios mediante la activación de las vías de señalización PI3K/Akt y AMPK (Than et al., 2015). Se demuestra también que durante el proceso de adipogénesis marrón hay una sobreexpresión de apelina, ejerciéndose un mecanismo de retroalimentación positiva que mejoraría la diferenciación del tejido adiposo marrón. Además, los mismos autores muestran que la apelina, en su papel como adipoquina, estimula la marronización de adipocitos blancos *in vitro* y del tejido adiposo blanco *in vivo* (Than et al., 2015) (Figura 3). De acuerdo con esto, de forma paralela varios grupos de investigación han observado una disminución del número de adipocitos marrones y un incremento de adipocitos blancos hipertrofiados en ratones knock-out para la apelina o para el receptor APJ (Than, Cheng, et al., 2012).

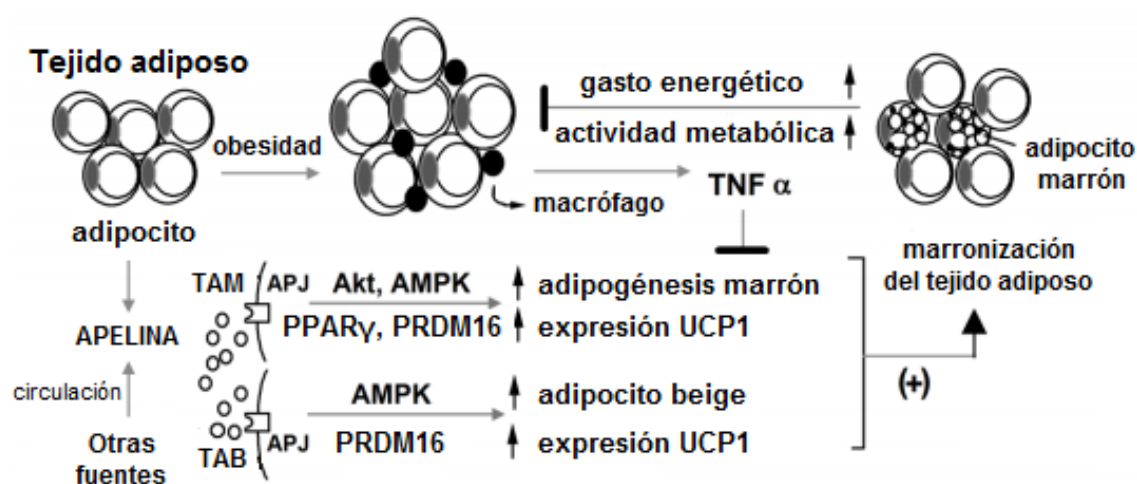


Figura 3. Esquema de los efectos de la apelina sobre la adipogénesis y oscurecimiento del tejido adiposo blanco. Adaptado de (Than et al., 2015)

La expresión de apelina en tejido adiposo blanco y músculo se induce en condiciones que favorecen la marronización de la grasa blanca y la activación del tejido adiposo marrón. La actividad metabólica del tejido adiposo marrón y el proceso de marronización del tejido adiposo blanco se ven incrementados durante la exposición a temperaturas bajas (Ouellet et al., 2012). Este hecho se debe a una sobreexpresión de la proteína desacoplante UCP1 inducida por la activación del SNS y el consiguiente aumento de los niveles de AMPc en los adipocitos. De forma adicional, el incremento de AMPc induce la secreción de apelina por parte del tejido adiposo blanco (Than, Tee, & Chen, 2012). De igual forma, la realización de ejercicio físico ejerce un mecanismo similar sobre la termogénesis en el tejido adiposo marrón y el oscurecimiento del tejido adiposo blanco (Bartelt & Heeren, 2014). Estudios en pacientes obesos muestran un aumento de la expresión de apelina (ahora como mioquina) en el músculo posteriormente a la actividad física (Besse-Patin et al., 2014). Estos resultados respaldan la hipótesis del posible efecto de la apelina sobre el proceso de marronización del tejido adiposo blanco en respuesta tanto al ejercicio físico como a la exposición a bajas temperaturas.

4.3.4 Inhibición de la adipogénesis en el tejido adiposo blanco

La actividad del sistema apelina/APJ podría ejercer una regulación autocrina sobre el proceso de adipogénesis a partir de precursores residentes en los depósitos grasos. Hay estudios que demuestran un efecto inhibitorio de la apelina sobre la

adipogénesis (Than, Cheng, et al., 2012). Así, el tratamiento con apelina sobre pre-adipocitos 3T3-L1 disminuye la expresión progresiva de los principales factores de transcripción adipogénicos, como son el PPAR γ y el C/EBP α . En consecuencia, el proceso de adipogénesis se suprime, resultando en una reducción de los marcadores específicos adipocitarios, como son la ácido graso sintasa (FAS), la acetil-Coa carboxilasa (ACC) (ya que el proceso de adipogénesis va acompañado de la lipogénesis) y la leptina. Estas evidencias indican que la apelina inhibe la diferenciación de los pre-adipocitos 3T3-L1 en adipocitos maduros.

La inhibición de la adipogénesis por apelina sería dependiente de la activación de vías de señalización de las MAP quinasas (MAPK/ERK), ya que resulta suprimida en presencia de inhibidores de esta vías (Than, Cheng, et al., 2012). La activación de las MAPK es sabido que inhibe la expresión de los factores de transcripción adipogénicos (PPAR γ y C/EBP α), resultando en la supresión de la adipogénesis (Kim, Kim, Wang, & Sul, 2007; Rhee, Sung, Jung, & Cheon, 2008). De forma adicional, la apelina estimula la expresión del factor anti-adipogénico Wnt10b en preadipocitos (Than, Cheng, et al., 2012).

4.3.5 Estabilización de los vasos linfáticos y sanguíneos

La cantidad de grasa almacenada en el tejido adiposo está directamente relacionada con el grado de vascularización de dicho tejido. Encontramos estudios donde alteraciones que hacen los vasos linfáticos y sanguíneos hiperpermeables resultan en obesidad de aparición tardía (Harvey et al., 2005).

La apelina es necesaria para la formación del sistema vascular en el tejido adiposo durante el proceso de angiogénesis, y mejora la integridad de los vasos sanguíneos y linfáticos, evitando la hiperpermeabilidad (Kidoya, Naito, & Takakura, 2010). Los ratones knockout para apelina son más susceptibles que los controles de genotipo salvaje a la obesidad inducida por una dieta hipergrasa y esto se ha relacionado con el hecho de que presentan disfuncionalidad de los vasos linfáticos y sanguíneos, que en estos animales son más permeables, de modo que más ácidos grasos pueden llegar al tejido favoreciéndose la adipogénesis. Recíprocamente, ratones transgénicos con sobreexpresión de apelina y obesidad inducida presentan una reducción del tejido adiposo subcutáneo y mejor integridad (menor

hiperpermeabilidad) de los vasos en comparación con ratones de genotipo salvaje (Sawane et al., 2013). En estudios de co-cultivo de células endoteliales y preadipocitos que quieren mimetizar la vascularización linfática del tejido adiposo, se ha visto que el plasma de animales tratados con dieta hipergrasa favorece la diferenciación de los preadipocitos al alterar la permeabilidad de las células endoteliales. A partir de estudios *in vitro* adicionales se concluye que los ácidos grasos de origen dietético contenidos en el plasma son los responsables de la hiperpermeabilidad de los vasos linfáticos alterando las uniones adherentes entre las células endoteliales que forman los vasos, provocando la diferenciación de los adipocitos. Estudios *in vitro* indican que la apelina inhibe la hiperpermeabilidad producida por estos ácidos grasos exógenos mediante la modulación de la cadherina-VE, una importante molécula para la adhesión entre células endoteliales (Sawane et al., 2013). A partir de estos resultados, los autores han planteado la hipótesis de que los ácidos grasos exógenos provocan alteraciones en el sistema vascular del tejido adiposo a través de la supresión de la producción de apelina.

Dichos resultados indican que el sistema apelina/APJ promueve la integridad de los vasos linfáticos y sanguíneos e inhibe la hiperpermeabilidad producida por los ácidos grasos exógenos, resultando en una disminución de la acumulación de grasa en el tejido adiposo, contrarrestando el desarrollo de la obesidad.

5. PAPEL DE LA APELINA EN LA MODULACIÓN DE LAS COMPLICACIONES METABÓLICAS DE LA OBESIDAD

5.1 *Apelina en la reducción de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS)*

El incremento del estrés oxidativo en el tejido adiposo obeso, debido a una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), contribuye a la estimulación de patologías relacionadas con la obesidad, principalmente la resistencia a la insulina (Sankhla et al., 2012). El estrés oxidativo en el tejido adiposo altera la funcionalidad de los adipocitos, estimulando los procesos de adipogénesis, lipogénesis y lipólisis. A su vez, altera la capacidad oxidativa mitocondrial y ejerce un mecanismo de retroalimentación positiva estimulando la sobreproducción de ROS

(Wang, Wang, Huang, & Wei, 2013), resultando en un estado de inflamación local típico de la obesidad (Fernandez-Sanchez et al., 2011).

El exceso de ROS estimula la secreción de apelina por los adipocitos. Se ha obtenido evidencia de que, funcionando de manera paracrina, la unión entre la apelina y su receptor APJ en la membrana de los adipocitos estimula la expresión de enzimas anti-oxidantes (superóxido dismutasa y catalasa) e inhibe la producción de enzimas pro-oxidantes (NADPH-oxidasa) (Than et al., 2014) (Figura 4). En la misma línea, hay estudios en cardiomiocitos que indican que el tratamiento con apelina disminuye los niveles plasmáticos de hidroperóxido lipídico (marcador sistémico de estrés oxidativo) (Foussal et al., 2010).

Sin embargo, también hay estudios que sugieren que el receptor APJ está involucrado en el desarrollo de la aterosclerosis mediante el incremento del estrés oxidativo (Hashimoto et al., 2007). De forma paralela, (D. Lv, Li, & Chen, 2013) propone que la carencia del receptor APJ en los vasos sanguíneos podría suponer un mecanismo de defensa frente a la sobreproducción de ROS durante el desarrollo de la aterosclerosis.

Por tanto, actualmente existe cierta controversia ya que no se conoce con exactitud el papel que ejerce el sistema apelina/APJ sobre el estrés oxidativo a nivel de organismo (Zhou, Cao, & Chen, 2016).

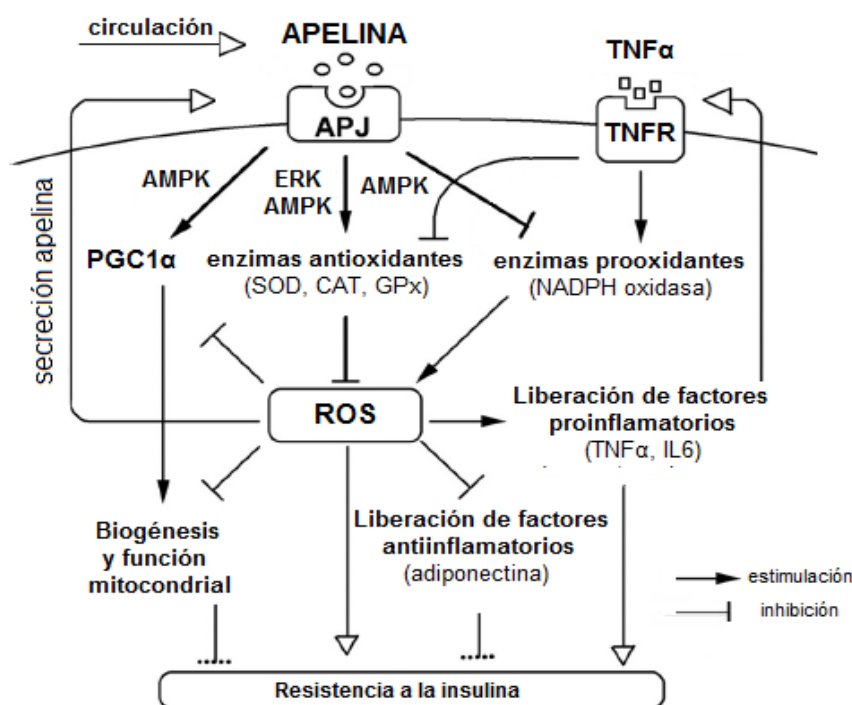


Figura 4: Vías de señalización del sistema apelina/APJ en la regulación del estrés oxidativo. Adaptado de (Than et al., 2014)

5.2 Apelina en la modulación de la dislipidemia asociada a la obesidad

Una de las alteraciones metabólicas más relevantes en la obesidad es la dislipidemia, y en particular el incremento de los ácidos grasos libres circulantes. Durante los últimos años se ha investigado el papel de la apelina en el metabolismo lipídico.

En adipocitos 3T3-L1 se ha visto que la apelina inhibe la lipólisis inducida por la acción del isoproterenol por mecanismos dependientes de la vía de transducción de señales mediada por proteínas G heterotrómicas (G_i y G_q) y la vía de la AMPK (Yue et al., 2011). En la misma línea, (Than, Cheng, et al., 2012) indica que la apelina reduce la liberación de ácidos grasos libres por adipocitos 3T3-L1 vía AMPK. Además propone que la apelina aumenta la expresión de perilipina (proteína presente en la membrana de las gotas lipídicas de los adipocitos) e inhibe la HSL (lipasa sensible a hormona), resultando en una mayor resistencia de las gotas lipídicas frente a la acción de las lipasas. En concordancia con los anteriores resultados, ratones *knockout* para la apelina presentan un aumento de los niveles

circulantes de ácidos grasos libres y una mayor adiposidad abdominal, y estas alteraciones se ven contrarrestadas mediante el tratamiento de los animales con apelina (Yue et al., 2011). Sin embargo, a día de hoy, no se han podido confirmar estos efectos sobre el metabolismo lipídico por parte del sistema apelina/APJ en adipocitos o explantes de tejido adiposo humano, en los que la apelina estimuló la captación de glucosa pero no la lipólisis (Attane et al., 2011).

5.3 Apelina en la modulación de la resistencia a la insulina y las alteraciones de la homeostasia de la glucosa asociada a la obesidad

La homeostasia de la glucosa depende fundamentalmente del balance entre la producción hepática de glucosa y el uso de la misma en los tejidos consumidores. El principal efecto de la apelina sobre el metabolismo glucídico es la disminución de los niveles de la glucosa circulantes mediante el aumento de la utilización de la glucosa en los tejidos periféricos sensibles a la insulina. Sin embargo, no se aprecian efectos sobre una posible inhibición de la producción de glucosa hepática. (Dray et al., 2008). La estimulación de la captación de glucosa inducida por la, apelina a través de la vía dependiente de AMPK se adiciona a la ejercida por la insulina. Además, se ha observado que la apelina es capaz de estimular la captación y consumo de glucosa en el tejido muscular de ratones obesos con resistencia a la insulina, lo que resulta en una mejora en la sensibilización a la insulina (Dray et al., 2008; Yue et al., 2010). También se ha descrito la inhibición de la producción pancreática de insulina por la apelina (Guo et al., 2009).

El papel de la apelina en la homeostasia de la glucosa se ha visto corroborado en ratones *knockout* para la apelina, que presentan un estado de hiperinsulinemia y resistencia a la insulina (Yue et al., 2010). También se ha observado la estimulación del transporte de glucosa por la apelina en explantes de tejido adiposo humano a través de la vía AMPK (Attane et al., 2011) y en adipocitos 3T3-L1, a través de la activación PI3K/Akt (Zhu et al., 2011).

Los efectos de la apelina no solo se dan en el tejido adiposo y el muscular, sino que también, *in vivo*, se ha observado un aumento de la entrada de glucosa, a

través del transportador GLUT4, en el miocardio de ratones e, *in vitro*, en cardiomioblastos tratados con apelina (Xu et al., 2012). La ingesta oral de glucosa induce la secreción de apelina en el lumen intestinal de ratones y, subsiguientemente, la apelina estimula también la absorción intestinal de glucosa (Dray et al., 2013). Finalmente, la apelina incrementa la liberación de GLP-1 (incretina), secretado por las células L del intestino, mejorando así la secreción de insulina en respuesta a la ingesta y disminuyendo los niveles de glucosa circulantes (Wattez et al., 2013).

6. APELINA EN LA OBESIDAD HUMANA

En el 2005 se publicaron los primeros estudios referentes a los niveles circulantes de apelina en humanos, en los cuales se reportaron niveles incrementados en sujetos obesos con hiperinsulinemia (Boucher et al., 2005). No obstante, a día de hoy, existe una gran controversia con respecto a la correlación entre los niveles plasmáticos de apelina y la obesidad y patologías relacionadas, como la diabetes.

Numerosas publicaciones indican que los niveles circulantes de apelina están incrementados en la obesidad, pero también hay estudios que encuentran la apelina disminuida en individuos obesos. Hay estudios que indican que los niveles de apelina están elevados en la diabetes (tipo 2 y, sobre todo, tipo 1), pero no en la obesidad sin diabetes. También hay estudios donde se miden los cambios en los niveles de apelina posteriores a la pérdida de peso o a una cirugía bariátrica con el objetivo de combatir los efectos de la obesidad, con resultados igualmente contradictorios (Bertrand et al., 2015).

De forma global, las investigaciones con el principal objetivo de esclarecer la relación entre los niveles de apelina y la obesidad en una gran variedad de grupos de estudio en humanos, sugieren que la obesidad en sí misma no es el principal factor determinante en la variación de los niveles de apelina en pacientes obesos. No obstante, cambios en los niveles de apelina han sido directamente correlacionados con los niveles de triglicéridos circulantes, glucosa, TNF α y resistencia insulínica (HOMA-IR), todos ellos factores relacionados con el desarrollo de la obesidad (Li et al., 2006).

Estudios recientes han investigado la relación entre polimorfismos (SNPs) del gen APLN (gen que codifica para la apelina) y el fenotipo obeso. En un estudio con población china, el genotipo homocigótico recesivo CC del polimorfismo rs3115757 se encontró asociado a un mayor IMC y perímetro abdominal en mujeres, pero no en hombres. También muestra este estudio que los adipocitos provenientes de personas CC (pero no CG o GG) presentan un incremento (respecto del nivel basal) de la producción de apelina cuando son expuestos a altas concentraciones de glucosa e insulina (Liao et al., 2011). Sin embargo, es necesario investigar de forma más profunda los efectos de dicho SNP, ya que otro estudio en la misma línea de investigación, este en población egipcia, contradice dichos resultados indicando que el genotipo homocigótico GG supone un mayor riesgo frente al desarrollo de la obesidad (Aboouf, Hamdy, Amin, & El-Mesallamy, 2015). En todo caso, los dos estudios establecen una relación entre el polimorfismo rs3115757 en el gen de la apelina y el desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina.

7. RESUMEN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

La apelina es el ligando del receptor APJ, existen varias isoformas de dicho péptido (apelina-36, apelina-17, apelina-13). El sistema apelina/APJ se encuentra expresado en varios tejidos, como el sistema nervioso, corazón, músculo, intestino y tejido adiposo, entre otros. La apelina juega un papel en la regulación del sistema cardiovascular, en la homeostasis de fluidos y, como se ha revisado aquí, el control del metabolismo energético. Los estudios indican alteraciones en los niveles de apelina circulantes en la obesidad y la diabetes. Actualmente se está investigando la posibilidad de que el sistema apelina/APJ pueda ser una buena diana terapéutica para solventar los desórdenes metabólicos producidos durante la obesidad, como son la resistencia insulínica en tejidos periféricos, la hiperglucemia o el exceso de adiposidad. Como se ha descrito en este trabajo, existen numerosas evidencias del potencial terapéutico que supondría el entendimiento de la multitud de efectos que ejerce la apelina sobre sus tejidos diana. Existe un efecto anti-obesidad por parte de la apelina, observado sobretudo en la regulación de la adipogénesis blanca y marrón, la biogénesis mitocondrial en el músculo, la angiogénesis en el tejido adiposo y el control del apetito en el hipotálamo. Asimismo, hay estudios que

sugieren un papel regulador por parte de la apelina en las diversas complicaciones metabólicas asociadas a la obesidad, como son la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno, las alteraciones de la homeostasia glucídica y la dislipidemia.

Los efectos beneficiosos de la apelina sobre el metabolismo energético descritos anteriormente en diferentes modelos animales — ya sean ratones con fenotipo KO para la apelina, transgénicos que la sobreexpresan o ratones con obesidad inducida mediante la dieta tratados con apelina — sugieren que la apelina juega un papel sobre la obesidad y las diversas patologías relacionadas a ella. No obstante, de momento carecemos de estudios de intervención en humanos en los cuales se pueda relacionar los efectos observados en animales y cultivos celulares. Hay diversas cuestiones sin resolver que necesitan de más investigación para ser esclarecidas, probablemente antes de que puedan realizarse ensayos clínicos con apelina en humanos obesos y/o con síndrome metabólico:

- Tal vez, la más destacable es que se precisa una visión más profunda sobre los efectos del tratamiento con apelina sobre el sistema nervioso central, mediante inyecciones intracerebroventriculares, en ratones sanos y obesos, ya que hay gran controversia en dichos estudios.
- Asimismo, se debería profundizar en la investigación de las vías de señalización del sistema apelina/APJ en un contexto global a nivel de organismo, esclareciendo los efectos sobre el sistema cardiaco, vascular y adiposo.
- Otro punto a mejorar, son las técnicas usadas para cuantificar los niveles de apelina, ya que en cada estudio se presentan unos rangos basales distintos. Sería conveniente unificar los datos y establecer unos valores predeterminados a nivel común. Pese a que se conocen las diversas isoformas de la apelina y sus correspondientes mecanismos de activación, carecemos de información respecto a si los niveles de apelina en sangre corresponden en su totalidad a las isoformas activas de la apelina y cuáles son las predominantes en cada una de las complicaciones metabólicas relacionadas con el síndrome metabólico y la obesidad.
- Finalmente, se están empezando a describir agonistas y antagonistas para el receptor APJ, sin embargo aún faltan estudios donde se evalúe su actividad

sobre los diversos tejidos diana y la dilucidación de sus correspondientes vías de señalización.

La resolución de dichas cuestiones y las nuevas perspectivas de futuro sobre los efectos beneficiosos de la apelina sobre el metabolismo energético, prometen ser un gran avance sobre los posibles tratamientos y terapias con el principal objetivo de remediar las patologías relacionadas con la obesidad.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Aboouf, M. A., Hamdy, N. M., Amin, A. I., & El-Mesallamy, H. O. (2015). Genotype screening of APLN rs3115757 variant in Egyptian women population reveals an association with obesity and insulin resistance. *Diabetes Res Clin Pract*, 109(1), 40-47. doi: 10.1016/j.diabres.2015.05.016
- Attane, C., Daviaud, D., Dray, C., Dusaulcy, R., Masseboeuf, M., Prevot, D., . . . Valet, P. (2011). Apelin stimulates glucose uptake but not lipolysis in human adipose tissue ex vivo. *J Mol Endocrinol*, 46(1), 21-28. doi: 10.1677/JME-10-0105
- Attane, C., Foussal, C., Le Gonidec, S., Benani, A., Daviaud, D., Wanecq, E., . . . Castan-Laurell, I. (2012). Apelin treatment increases complete Fatty Acid oxidation, mitochondrial oxidative capacity, and biogenesis in muscle of insulin-resistant mice. *Diabetes*, 61(2), 310-320. doi: 10.2337/db11-0100
- Bartelt, A., & Heeren, J. (2014). Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat Rev Endocrinol*, 10(1), 24-36. doi: 10.1038/nrendo.2013.204
- Bertrand, C., Valet, P., & Castan-Laurell, I. (2015). Apelin and energy metabolism. *Front Physiol*, 6, 115. doi: 10.3389/fphys.2015.00115
- Besse-Patin, A., Montastier, E., Vinel, C., Castan-Laurell, I., Louche, K., Dray, C., . . . Viguerie, N. (2014). Effect of endurance training on skeletal muscle myokine expression in obese men: identification of apelin as a novel myokine. *Int J Obes (Lond)*, 38(5), 707-713. doi: 10.1038/ijo.2013.158
- Boucher, J., Masri, B., Daviaud, D., Gesta, S., Guigne, C., Mazzucotelli, A., . . . Valet, P. (2005). Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*, 146(4), 1764-1771. doi: 10.1210/en.2004-1427
- Carpene, C., Dray, C., Attane, C., Valet, P., Portillo, M. P., Churrua, I., . . . Castan-Laurell, I. (2007). Expanding role for the apelin/APJ system in physiopathology. *J Physiol Biochem*, 63(4), 359-373.
- Castan-Laurell, I., Dray, C., Attane, C., Duparc, T., Knauf, C., & Valet, P. (2011). Apelin, diabetes, and obesity. *Endocrine*, 40(1), 1-9. doi: 10.1007/s12020-011-9507-9
- Chapman, N. A., Dupre, D. J., & Rainey, J. K. (2014). The apelin receptor: physiology, pathology, cell signalling, and ligand modulation of a peptide-activated class A GPCR. *Biochem Cell Biol*, 92(6), 431-440. doi: 10.1139/bcb-2014-0072
- De Mota, N., Lenkei, Z., & Llorens-Cortes, C. (2000). Cloning, pharmacological characterization and brain distribution of the rat apelin receptor. *Neuroendocrinology*, 72(6), 400-407. doi: 54609
- Dray, C., Knauf, C., Daviaud, D., Waget, A., Boucher, J., Buleon, M., . . . Valet, P. (2008). Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell Metab*, 8(5), 437-445. doi: 10.1016/j.cmet.2008.10.003

- Dray, C., Sakar, Y., Vinel, C., Daviaud, D., Masri, B., Garrigues, L., . . . Ducroc, R. (2013). The intestinal glucose-apelin cycle controls carbohydrate absorption in mice. *Gastroenterology*, *144*(4), 771-780. doi: 10.1053/j.gastro.2013.01.004
- Fernandez-Sanchez, A., Madrigal-Santillan, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-Gonzalez, A., Esquivel-Chirino, C., . . . Morales-Gonzalez, J. A. (2011). Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci*, *12*(5), 3117-3132. doi: 10.3390/ijms12053117
- Foussal, C., Lairez, O., Calise, D., Pathak, A., Guilbeau-Frugier, C., Valet, P., . . . Kunduzova, O. (2010). Activation of catalase by apelin prevents oxidative stress-linked cardiac hypertrophy. *FEBS Lett*, *584*(11), 2363-2370. doi: 10.1016/j.febslet.2010.04.025
- Frier, B. C., Williams, D. B., & Wright, D. C. (2009). The effects of apelin treatment on skeletal muscle mitochondrial content. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *297*(6), R1761-1768. doi: 10.1152/ajpregu.00422.2009
- Glassford, A. J., Yue, P., Sheikh, A. Y., Chun, H. J., Zarafshar, S., Chan, D. A., . . . Tsao, P. S. (2007). HIF-1 regulates hypoxia- and insulin-induced expression of apelin in adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *293*(6), E1590-1596. doi: 10.1152/ajpendo.00490.2007
- Guo, L., Li, Q., Wang, W., Yu, P., Pan, H., Li, P., . . . Zhang, J. (2009). Apelin inhibits insulin secretion in pancreatic beta-cells by activation of PI3-kinase-phosphodiesterase 3B. *Endocr Res*, *34*(4), 142-154. doi: 10.3109/07435800903287079
- Harms, M., & Seale, P. (2013). Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat Med*, *19*(10), 1252-1263. doi: 10.1038/nm.3361
- Harvey, N. L., Srinivasan, R. S., Dillard, M. E., Johnson, N. C., Witte, M. H., Boyd, K., . . . Oliver, G. (2005). Lymphatic vascular defects promoted by Prox1 haploinsufficiency cause adult-onset obesity. *Nat Genet*, *37*(10), 1072-1081. doi: 10.1038/ng1642
- Hashimoto, T., Kihara, M., Imai, N., Yoshida, S., Shimoyamada, H., Yasuzaki, H., . . . Umemura, S. (2007). Requirement of apelin-apelin receptor system for oxidative stress-linked atherosclerosis. *Am J Pathol*, *171*(5), 1705-1712. doi: 10.2353/ajpath.2007.070471
- Heilbronn, L. K., & Campbell, L. V. (2008). Adipose tissue macrophages, low grade inflammation and insulin resistance in human obesity. *Curr Pharm Des*, *14*(12), 1225-1230.
- Higuchi, K., Masaki, T., Gotoh, K., Chiba, S., Katsuragi, I., Tanaka, K., . . . Yoshimatsu, H. (2007). Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology*, *148*(6), 2690-2697. doi: 10.1210/en.2006-1270
- Jaszberenyi, M., Bujdoso, E., & Telegdy, G. (2004). Behavioral, neuroendocrine and thermoregulatory actions of apelin-13. *Neuroscience*, *129*(3), 811-816. doi: 10.1016/j.neuroscience.2004.08.007
- Kajimura, S., & Saito, M. (2014). A new era in brown adipose tissue biology: molecular control of brown fat development and energy homeostasis. *Annu Rev Physiol*, *76*, 225-249. doi: 10.1146/annurev-physiol-021113-170252
- Kidoya, H., Naito, H., & Takakura, N. (2010). Apelin induces enlarged and nonleaky blood vessels for functional recovery from ischemia. *Blood*, *115*(15), 3166-3174. doi: 10.1182/blood-2009-07-232306
- Kim, K. A., Kim, J. H., Wang, Y., & Sul, H. S. (2007). Pref-1 (preadipocyte factor 1) activates the MEK/extracellular signal-regulated kinase pathway to inhibit adipocyte differentiation. *Mol Cell Biol*, *27*(6), 2294-2308. doi: 10.1128/MCB.02207-06
- Kunduzova, O., Alet, N., Delesque-Touchard, N., Millet, L., Castan-Laurell, I., Muller, C., . . . Valet, P. (2008). Apelin/APJ signaling system: a potential link between adipose tissue and endothelial angiogenic processes. *FASEB J*, *22*(12), 4146-4153. doi: 10.1096/fj.07-104018

- Lee, D. K., Cheng, R., Nguyen, T., Fan, T., Kariyawasam, A. P., Liu, Y., . . . O'Dowd, B. F. (2000). Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*, 74(1), 34-41.
- Li, L., Yang, G., Li, Q., Tang, Y., Yang, M., Yang, H., & Li, K. (2006). Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 114(10), 544-548. doi: 10.1055/s-2006-948309
- Liao, Y. C., Chou, W. W., Li, Y. N., Chuang, S. C., Lin, W. Y., Lakkakula, B. V., . . . Juo, S. H. (2011). Apelin gene polymorphism influences apelin expression and obesity phenotypes in Chinese women. *Am J Clin Nutr*, 94(3), 921-928. doi: 10.3945/ajcn.110.008813
- Lv, D., Li, H., & Chen, L. (2013). Apelin and APJ, a novel critical factor and therapeutic target for atherosclerosis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 45(7), 527-533. doi: 10.1093/abbs/gmt040
- Lv, S. Y., Yang, Y. J., Qin, Y. J., Mo, J. R., Wang, N. B., Wang, Y. J., & Chen, Q. (2012). Central apelin-13 inhibits food intake via the CRF receptor in mice. *Peptides*, 33(1), 132-138. doi: 10.1016/j.peptides.2011.11.011
- Lv, S. Y., Yang, Y. J., Qin, Y. J., Xiong, W., & Chen, Q. (2011). Effect of centrally administered apelin-13 on gastric emptying and gastrointestinal transit in mice. *Peptides*, 32(5), 978-982. doi: 10.1016/j.peptides.2011.01.023
- Masaki, T., Chiba, S., Yasuda, T., Tsubone, T., Kakuma, T., Shimomura, I., . . . Yoshimatsu, H. (2003). Peripheral, but not central, administration of adiponectin reduces visceral adiposity and upregulates the expression of uncoupling protein in agouti yellow (Ay/a) obese mice. *Diabetes*, 52(9), 2266-2273.
- O'Shea, M., Hansen, M. J., Tatemoto, K., & Morris, M. J. (2003). Inhibitory effect of apelin-12 on nocturnal food intake in the rat. *Nutr Neurosci*, 6(3), 163-167. doi: 10.1080/1028415031000111273
- Ouellet, V., Labbe, S. M., Blondin, D. P., Phoenix, S., Guerin, B., Haman, F., . . . Carpentier, A. C. (2012). Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. *J Clin Invest*, 122(2), 545-552. doi: 10.1172/JCI60433
- Rhee, S. D., Sung, Y. Y., Jung, W. H., & Cheon, H. G. (2008). Leptin inhibits rosiglitazone-induced adipogenesis in murine primary adipocytes. *Mol Cell Endocrinol*, 294(1-2), 61-69. doi: 10.1016/j.mce.2008.08.018
- Sakamoto, T., Takahashi, N., Sawaragi, Y., Naknukool, S., Yu, R., Goto, T., & Kawada, T. (2013). Inflammation induced by RAW macrophages suppresses UCP1 mRNA induction via ERK activation in 10T1/2 adipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*, 304(8), C729-738. doi: 10.1152/ajpcell.00312.2012
- Sankhla, M., Sharma, T. K., Mathur, K., Rathor, J. S., Butolia, V., Gadhok, A. K., . . . Kaushik, G. G. (2012). Relationship of oxidative stress with obesity and its role in obesity induced metabolic syndrome. *Clin Lab*, 58(5-6), 385-392.
- Sawane, M., Kajiya, K., Kidoya, H., Takagi, M., Muramatsu, F., & Takakura, N. (2013). Apelin inhibits diet-induced obesity by enhancing lymphatic and blood vessel integrity. *Diabetes*, 62(6), 1970-1980. doi: 10.2337/db12-0604
- Taheri, S., Murphy, K., Cohen, M., Sujkovic, E., Kennedy, A., Dhillon, W., . . . Bloom, S. (2002). The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 291(5), 1208-1212. doi: 10.1006/bbrc.2002.6575
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., . . . Fujino, M. (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 251(2), 471-476. doi: 10.1006/bbrc.1998.9489
- Than, A., Cheng, Y., Foh, L. C., Leow, M. K., Lim, S. C., Chuah, Y. J., . . . Chen, P. (2012). Apelin inhibits adipogenesis and lipolysis through distinct molecular pathways. *Mol Cell Endocrinol*, 362(1-2), 227-241. doi: 10.1016/j.mce.2012.07.002

- Than, A., He, H. L., Chua, S. H., Xu, D., Sun, L., Leow, M. K., & Chen, P. (2015). Apelin Enhances Brown Adipogenesis and Browning of White Adipocytes. *J Biol Chem*, 290(23), 14679-14691. doi: 10.1074/jbc.M115.643817
- Than, A., Tee, W. T., & Chen, P. (2012). Apelin secretion and expression of apelin receptors in 3T3-L1 adipocytes are differentially regulated by angiotensin type 1 and type 2 receptors. *Mol Cell Endocrinol*, 351(2), 296-305. doi: 10.1016/j.mce.2012.01.005
- Than, A., Zhang, X., Leow, M. K., Poh, C. L., Chong, S. K., & Chen, P. (2014). Apelin attenuates oxidative stress in human adipocytes. *J Biol Chem*, 289(6), 3763-3774. doi: 10.1074/jbc.M113.526210
- Valle, A., Hoggard, N., Adams, A. C., Roca, P., & Speakman, J. R. (2008). Chronic central administration of apelin-13 over 10 days increases food intake, body weight, locomotor activity and body temperature in C57BL/6 mice. *J Neuroendocrinol*, 20(1), 79-84. doi: 10.1111/j.1365-2826.2007.01617.x
- Wang, C. H., Wang, C. C., Huang, H. C., & Wei, Y. H. (2013). Mitochondrial dysfunction leads to impairment of insulin sensitivity and adiponectin secretion in adipocytes. *FEBS J*, 280(4), 1039-1050. doi: 10.1111/febs.12096
- Wattez, J. S., Ravallec, R., Cudennec, B., Knauf, C., Dhulster, P., Valet, P., . . . Lesage, J. (2013). Apelin stimulates both cholecystokinin and glucagon-like peptide 1 secretions in vitro and in vivo in rodents. *Peptides*, 48, 134-136. doi: 10.1016/j.peptides.2013.08.005
- Xu, S., Han, P., Huang, M., Wu, J. C., Chang, C., Tsao, P. S., & Yue, P. (2012). In vivo, ex vivo, and in vitro studies on apelin's effect on myocardial glucose uptake. *Peptides*, 37(2), 320-326. doi: 10.1016/j.peptides.2012.08.004
- Yamamoto, T., Habata, Y., Matsumoto, Y., Yasuhara, Y., Hashimoto, T., Hamajyo, H., . . . Mori, M. (2011). Apelin-transgenic mice exhibit a resistance against diet-induced obesity by increasing vascular mass and mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta*, 1810(9), 853-862. doi: 10.1016/j.bbagen.2011.05.004
- Yue, P., Jin, H., Aillaud, M., Deng, A. C., Azuma, J., Asagami, T., . . . Tsao, P. S. (2010). Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 298(1), E59-67. doi: 10.1152/ajpendo.00385.2009
- Yue, P., Jin, H., Xu, S., Aillaud, M., Deng, A. C., Azuma, J., . . . Tsao, P. S. (2011). Apelin decreases lipolysis via G(q), G(i), and AMPK-Dependent Mechanisms. *Endocrinology*, 152(1), 59-68. doi: 10.1210/en.2010-0576
- Zhou, Q., Cao, J., & Chen, L. (2016). Apelin/APJ system: A novel therapeutic target for oxidative stress-related inflammatory diseases (Review). *Int J Mol Med*, 37(5), 1159-1169. doi: 10.3892/ijmm.2016.2544
- Zhu, S., Sun, F., Li, W., Cao, Y., Wang, C., Wang, Y., . . . Cao, F. (2011). Apelin stimulates glucose uptake through the PI3K/Akt pathway and improves insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Biochem*, 353(1-2), 305-313. doi: 10.1007/s11010-011-0799-0

ANEXO			
Autor, año	PMID	Modelo experimental	Conclusión
<i>Attane, C., et al. 2011</i>	21062936	Adipocitos procedentes de sujetos normopeso	La apelina estimula el consumo de glucosa en adipocitos humanos vía AMPK, sin embargo la lipólisis no se ve alterada bajo los efectos del sistema apelina/APJ
<i>Attane, C., et al. 2012</i>	22210322	Administración apelina en ratones y medición de los parámetros bioquímicos	El tratamiento con apelina incrementa la oxidación completa de los ácidos grasos, mejora la capacidad oxidativa mitocondrial y la biogénesis mitocondrial en ratones con resistencia a la insulina
<i>Besse-Patin, A., et al. 2014</i>	23979219	Cultivo de mioblastos (<i>in vitro</i>) y pacientes obesos (<i>in vivo</i>)	El ejercicio físico regula de forma positiva la expresión de la apelina en el músculo esquelético en sujetos obesos
<i>Boucher, J., et al. 2005</i>	15677759	Plasma sanguíneo y preadipocitos tanto en ratones y humanos.	Expresión de la apelina en el TAB tanto en humanos como en ratones. Sobreexpresión de la apelina en ratones obesos con RI. Regulación de la apelina mediada por la insulina
<i>De Mota, N., et al. 2000</i>	11146423	Ratas	Distribución del receptor APJ en distintas regiones del cerebro
<i>Dray, C., et al. 2008</i>	19046574	Administración apelina en ratones y medición de los parámetros bioquímicos	La apelina estimula el uso de glucosa tanto en ratones normales como en ratones con resistencia insulínica
<i>Dray, C., et al. 2013</i>	23313268	Ratones normopeso	El sistema apelina/APJ regula la absorción glucídica en el intestino mediante los receptores GLUT2 y SGLT-1.
<i>Foussal, C., et al. 2010</i>	20398658	Administración crónica (ip) de apelina en ratones C57BL6/J	El sistema apelina/APJ contribuye a la prevención del estrés oxidativo en el músculo cardíaco mediante la activación de la enzima catalasa
<i>Frier, B.C., et al. 2009</i>	19793954	Inyecciones de apelina-13 durante dos semanas en ratas	La apelina incrementa la biogénesis mitocondrial en el músculo esquelético en ratas
<i>Guo, L., et al. 2009</i>	19878074	Células INS-1	La apelina inhibe la secreción de insulina en las células beta-pancreáticas mediante la activación de la vía PDE3B
<i>Hashimoto, T., et al. 2007</i>	17884970	Ratones doble KO para la expresión de APJ y ApoE con obesidad inducida mediante dieta	El sistema apelina/APJ es uno de los mediadores del estrés oxidativo en el tejido vascular, siendo un posible factor responsable de la aterosclerosis
<i>Higuchi, K., et al. 2007</i>	17347313	Administración apelina en ratones normopeso y obesos con resistencia a la insulina	El sistema apelina/APJ regula la adiposidad e incrementa la sobreexpresión de proteínas desacoplantes en ratones

Autor, año	PMID	Modelo experimental	Conclusión
<i>Jaszberenyi, M., et al. 2004</i>	15541902	Inyección icv de apelina en ratas normopeso y obesas	La apelina-13 juega un importante papel en la regulación de la conducta y las respuestas endocrinas sobre el sistema nervioso central, mediante diversos factores: prostaglandinas, dopamina y óxido nítrico
<i>Kidoya, H., et al. 2010</i>	20185589	Cultivo celular de ratones transgénicos con sobreexpresión de apelina	La apelina induce el agrandamiento y la impermeabilidad de los vasos sanguíneos durante la recuperación tras la isquemia
<i>Leeper, N.J., et al. 2009</i>	19304942	Cultivo de macrófagos y fibroblastos procedentes de ratón	No se indican evidencias experimentales de las supuestas propiedades anti-inflamatorias de la apelina
<i>Ly, S. Y., et al. 2012</i>	22108714	Inyección icv de apelina en ratones obesos y normopeso	La administración de apelina-13 a nivel central inhibe el apetito mediante la vía de señalización CRF
<i>O'Shea, M. et al. 2003</i>	12793520	Inyección icv de apelina sobre ratones obesos y normopeso	La administración de apelina-12 (icv) inhibe el apetito durante el periodo nocturno
<i>Reinehr, T., et al. 2011</i>	21489579	Comparación parámetros bioquímicos entre niños obesos y normopeso	La pérdida de peso en niños obesos o el IMC no se encuentran asociados con variaciones en los niveles de apelina en sangre durante el periodo infantil
<i>Sawane, M., et al. 2013</i>	23378608	Ratones KO para la apelina con obesidad inducida mediante dieta y ratones TG con sobreexpresión de apelina	La apelina inhibe el desarrollo de la obesidad mediante la mejora de la integridad de los vasos sanguíneos y linfáticos
<i>Tatemoto, K., et al. 1998</i>	9792798	Ratas	Identificación de la apelina como el ligando del receptor APJ
<i>Than, A., et al. 2012</i>	22842084	Pre-adipocitos y adipocitos maduros de ratones 3T3-L1	La apelina inhibe la adipogénesis y la lipólisis en el tejido adiposo blanco mediante las vías MAPK/ERK y AMPK respectivamente
<i>Than, A., et al. 2014</i>	24362107	Pre-adipocitos humanos de sujetos con sobrepeso	El sistema apelina/APJ suprime la producción y liberación de especies reactivas de oxígeno en adipocitos humanos
<i>Than, A., et al. 2015</i>	25931124	Ratones normopeso y obesos. Cultivo de adipocitos del TAB	La apelina induce la marronización del tejido adiposo blanco y la adipogénesis del tejido adiposo marrón, así como mejora el proceso de termogénesis
<i>Valle, A., et al. 2008</i>	18081555	Ratones C57BL/6	La administración central (icv) de apelina-13 durante más de 10 días incrementa el apetito, el peso corporal, la actividad locomotora y la temperatura corporal en ratones C57BL/6

Autor, año	PMID	Modelo experimental	Conclusión
<i>Wattez, J. S., et al. 2013</i>	23954476	Administración de apelina-13 en ratones normopeso	La apelina-13 incrementa la secreción de GLP-1 en los enterocitos
<i>Yamamoto, T., et al. 2011</i>	21609753	Ratones transgénicos con sobreexpresión de apelina	Resistencia a la obesidad mediante el incremento de la masa vascular y biogénesis mitocondrial en el músculo esquelético
<i>Yue, P., et al. 2010</i>	19861585	Miocitos C2C12 y ratones tratados con apelina	Papel de la apelina en el mantenimiento de la sensibilidad insulínica
<i>Yue, P., et al. 2011</i>	21047945	Adipocitos 3T3-L1	Inhibición de la lipólisis por parte de la apelina
<i>Zhu, S., et al. 2011</i>	21461612	Adipocitos 3T3-L1	La apelina estimula el consumo glucídico mediante la vía PI3K/Akt y mejora la resistencia insulínica en adipocitos 3T3-L1