



Fundació
La Marató de TV3

22è SIMPOSIUM
Diabetis i Obesitat



L'IMPACTE DEL METABOLISME ENERGÈTIC EN LES MODIFICACIONS EPIGENÈTIQUES DERIVADES DE LA COMBINACIÓ DE DIABETIS I OBESITAT

Jorge Joven Maried

IISPV Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili – Reus

1. Resum

Objectius assolits

- 1) Identificar les alteracions en les rutes metabòliques que puguin predir l'impacte de la diabetis i l'obesitat. Hem fet servir nous mètodes quantitius d'alta resolució, així com estratègies de computació en estudis associats que requereixen el maneig de grans quantitats de dades.
- 2) Explorar l'efecte clínic i metabòlic de manipulacions dietètiques i quirúrgiques; els malalts que han perdut pes amb la diabetis controlada han permès fer aquesta exploració.
- 3) Explorar els efectes de la remissió dels trastorns metabòlics en l'associació entre les malalties i la metilació de l'ADN; els experiments *ex vivo* demostren el paper dinàmic de les modificacions de l'ADN en l'equilibri metabòlic.

Hem obtingut molts resultats derivats del caràcter multidisciplinari del projecte, ja publicats o en procés d'avaluació. De les troballes derivades dels objectius esmentats, en destaquem els més rellevants a continuació.

Resum

No hi ha una perspectiva holística que permeti relacionar clínicament la diabetis, l'obesitat i la malaltia del fetge gras associada a disfunció metabòlica. La inflamació al fetge (esteatohepatitis) és un factor de risc de mortalitat hepàtica que hem estudiat mitjançant tècniques òmiques. Encara no hi ha tractaments específics, però la remissió quirúrgica permet estudiar els senyals que governen el curs de la progressió de l'hepatopatia crònica. Hem avaluat la possible relació entre metabolisme, metilació i malaltia del fetge en l'obesitat, i els estudis funcionals permeten seguir el curs de les variables metabòliques en aquests malalts. La remissió de la disfunció hepàtica mitocondrial revela l'acció de les quinases MAPK en el control de l'estrès oxidatiu i la inflamació associada a canvis substancials del metabolisme, especialment l'augment de la producció d'alfa-cetoglutarat induït per la glutaminolisi i l'activació excessiva de mTOR. Aquests canvis resulten essencials per entendre l'activitat de les rutes metabòliques que coordinen l'apoptosi i l'autofàgia per regular la supervivència dels hepatòcits. Això suggereix dianes terapèutiques potencials. Les conseqüències

d'augmentar les concentracions d'alfa-cetoglutarat i metabòlits associats causen variacions epigenètiques associades amb el procés de metilació. L'anàlisi integrada del transcriptoma hepàtic i les regions genòmiques diferencialment metilades distingeixen els malalts que pateixen esteatohepatitis dels que no.

Conclusió

Oferim dades que indiquen el potencial polifacètic d'una producció augmentada d'alfa-cetoglutarat i la desregulació de l'activitat mTOR com una possible causa de respostes adaptatives deficientes que causen malalties cròniques del fetge.

2. Resultats

La combinació de diabetis i obesitat, dues malalties pandèmiques, és la responsable de múltiples associacions clíniques que requereixen un estudi i una avaluació curosos. La nostra atenció s'ha centrat en les malalties cròniques del fetge perquè afecten aproximadament el 30 % de la població a tot el món i perquè el seu diagnòstic, en si mateix difícil, sovint no és considerat amb l'atenció correcta. No hi ha tractament farmacològic. Dels múltiples resultats, en destaquem alguns a continuació.

1. La cirurgia és eficaç en la remissió de la diabetis, l'obesitat i les complicacions hepàtiques. Els canvis dietètics i l'exercici físic són útils, però fallen sovint. L'èxit terapèutic està relacionat amb la regulació sistèmica de la funció mitocondrial i l'estrès oxidatiu. La cirurgia és efectiva i millora totes les comorbiditats associades. En la figura 1 mostrem la resposta associada a la millora de la funció mitocondrial i hi identifiquem proteïnes mitocondrials i el complex II de la fosforilació oxidativa com a dianes terapèutiques potencialment útils.

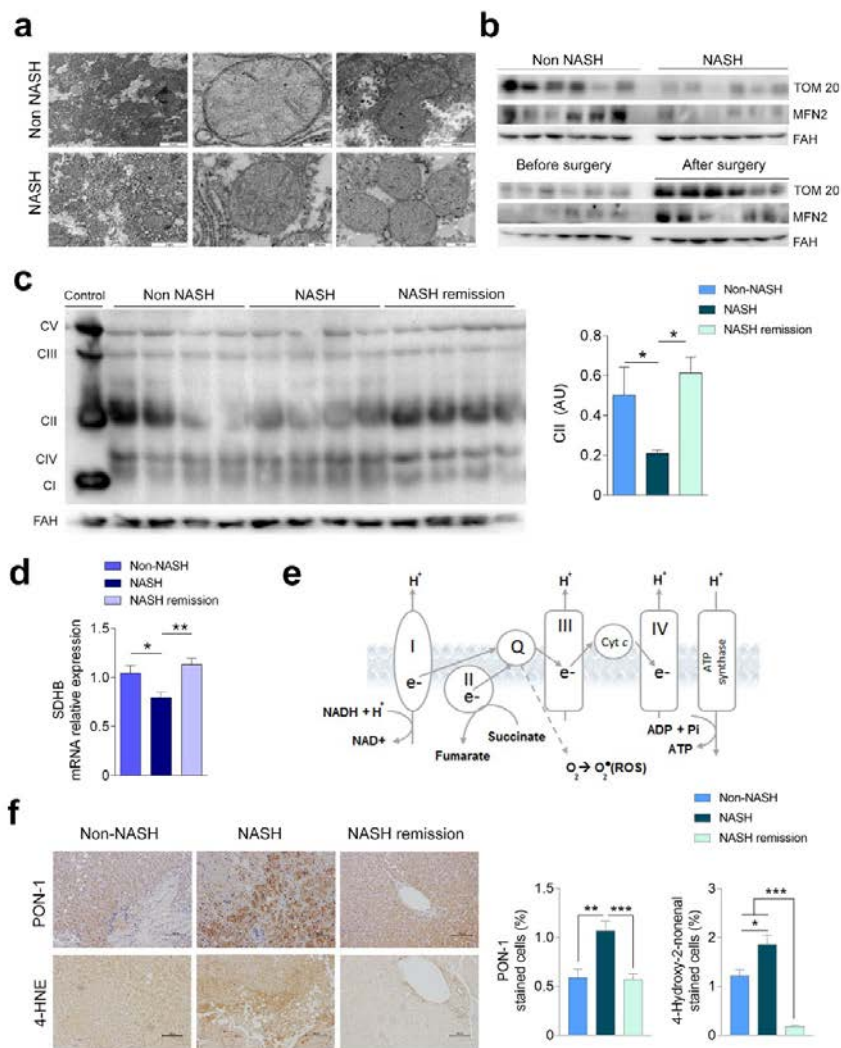


Figura 1. En pacients amb NASH, els trastorns hepàtics derivats de disfunció mitocondrial i estrès oxidatiu són reversibles.

(a) Microscòpia electrònica de transmissió en mitocondries hepàtiques. (b) *Western blots* representatives de l'expressió de Tom20 i Mfn2. (c) *Western blots* representatives dels complexos integrats en fosforilació oxidativa i quantificació de C II. (d) L'expressió del mRNA de succinat deshidrogenasa B il·lustra els canvis en C II. (e) Figura esquemàtica de la importància de C II en la fosforilació oxidativa. (f) Canvis en les expressions de 4-hidroxi-2-nonenal i PON-1. Les fotografies representatives incorporen la quantificació relativa.

Un cop vam identificar la disfunció mitocondrial com a causa o efecte de la combinació de diabetis i obesitat, vam estudiar-ne les conseqüències al fetge.

2. Les respostes d'adaptació a la lesió al fetge són múltiples i s'associen amb alteracions en l'estrès oxidatiu i la resposta inflamatòria. Aquestes respostes causen variacions en la concentració de citocines plasmàtiques i representen possibles marcadors de malaltia o dianes terapèutiques. Les variacions observades en hormones circulants també suggereixen un efecte sistèmic i la implicació de diversos teixits i òrgans en la combinació de diabetis i obesitat.

3. Els experiments *ex vivo* indiquen que les conseqüències de la malaltia s'associen a canvis en l'autofàgia i apoptosi (figura 2). En presència dels estímuls propis de diabetis i obesitat, la mort dels hepatòcits és excessiva, però és un procés reversible amb tractament. El més efectiu i ràpid és la cirurgia indicada per perdre pes.

4. És interessant constatar que l'equilibri entre apoptosi i autofàgia està coordinat al fetge (figura 2).

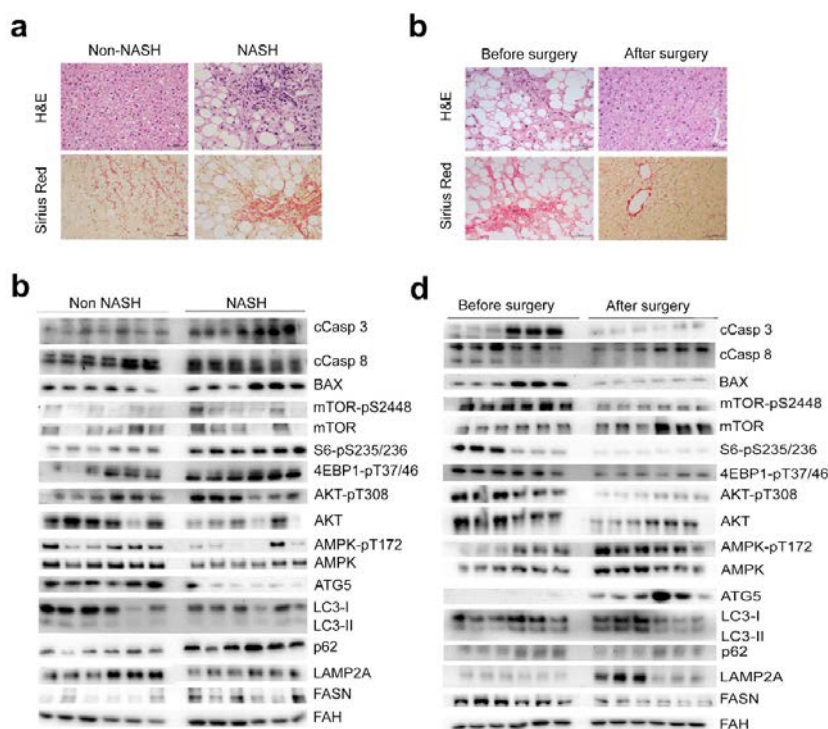


Figura 2. Al fetge, les rutes metabòliques modulades per AMPK i mTOR coordinen l'apoptosi i l'autofàgia.

(a) La histologia constata la presència de lesió hepàtica i (b) confirma els canvis beneficiosos després de la remissió. (c) Certs marcadors al fetge indiquen l'augment d'apoptosi i la deficiència en autofàgia en relació amb la fosforilació diferent en AMPK i mTOR. (d) Els mateixos marcadors mostren que en la remissió disminueix l'apoptosi i es reactiva l'autofàgia.

Augmenta l'apoptosi i disminueix l'autofàgia, la qual cosa es reverteix després de la remissió histològica.

5. En analitzar els metabòlits, descobrim que tant els canvis en la conversió d'alfa-cetoglutarat a succinat com en la glutaminolisi distingeixen bé els malalts amb esteatohepatitis de les persones que no la tenen. Aquests resultats indiquen que els canvis en l'activitat de glutamina sintetasa podrien representar una eina terapèutica.

6. Els estudis funcionals demostren que l'augment en la concentració d'alfa-cetoglutarat és suficient per alterar la funció mitocondrial i l'apoptosi en hepatòcits aïllats. La metformina és capaç de revertir els canvis *in vitro*, la qual cosa suggereix una altra possibilitat terapèutica.

7. L'anàlisi transcriptòmica mitjançant *microarrays* identifica un total de 345 gens que s'expressen de manera diferent en l'esteatohepatitis, dels quals 201 s'expressen menys i 144 s'expressen més. En general aquests canvis indiquen que la captació de glutamina augmenta en la malaltia hepàtica, en comparació amb l'ús de glucosa.

8. Els metabòlits alterats són essencials en el funcionament dels enzims metiltransferases, cosa que es confirma en estudiar els gens que es metilen de manera diferent en funció de la presència de malaltia (figura 3). Quan considerem només els promotors amb correlació a l'expressió gènica, identifiquem regions amb diferents graus de metilació; en particular n'hi ha 222 amb metilació baixa i 145 amb metilació alta (figura 3).

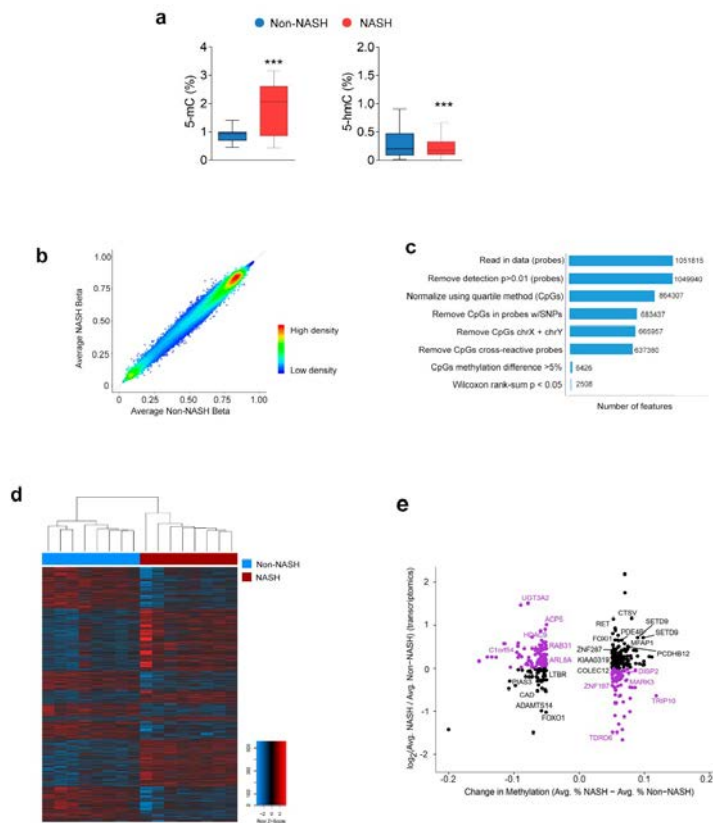


Figura 3. Les regions en l'ADN amb diferent grau de metilació coincideixen amb diferent expressió gènica al fetge.

(a) A l'ADN genòmic de fetge, l'esteatohepatitis afecta el grau de metilació amb (b) distribució bimodal estable. (c) Entre grups, hi va haver 2.508 regions amb diferent metilació, (d) dels quals 367 es localitzaven en promotors que distingien esteatohepatitis. (e) Considerant els canvis en l'expressió dels gens i el seu grau de metilació, els dos estats es poden donar i obtenir resposta.

En resum, la remissió de la malaltia hepàtica crònica il·lustra la necessitat de trobar dianes terapèutiques, probablement múltiples, i la importància de la disfunció mitocondrial. L'augment en la producció d'alfa-cetoglutarat induït per glutaminolisi és un candidat robust per explicar la patogènia de la malaltia i és un possible promotor de la progressió a esteatohepatitis.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

La importància de la combinació de diabetis i obesitat no és només epidemiològica ja que les conseqüències en morbiditat i mortalitat són considerables. Els tractaments actuals centrats en el control del metabolisme de la glucosa no són prou ambiciosos i la pèrdua de pes aconseguida acostuma a no ser suficient per prevenir les complicacions metabòliques. Ara bé, els resultats quirúrgics són satisfactoris. També vam demostrar que el fetge està afectat en la majoria de pacients, tot i que el diagnòstic no s'obté en molts casos i el tractament, no establert, és deficitari considerant l'impacte de la mortalitat hepàtica en pacients amb obesitat. Hem proposat algunes dianes farmacològiques que mereixen una investigació més detallada perquè el tractament habitual basat en intervencions dietètiques o fàrmacs disponibles té efectes limitats i acostumen a fallar. No obstant això, la cirurgia bariàtrica o metabòlica reverteix molt ràpidament la diabetis i les complicacions metabòliques associades. Proposem considerar aquest tractament, tot i que sigui agressiu, en pacients amb obesitat i diabetis que desenvolupen complicacions metabòliques. Alternativament, els resultats donen suport a la necessitat de fer un esforç més gran per prevenir tant l'obesitat com la diabetis.

4. Bibliografia científica generada

Algunes de les publicacions que es citen a continuació estan en fase de preparació.

Cabré N, Luciano-Mateo F, Chapski DJ, *et al.*

Glutaminolysis-induced mTORC1 activation drives non-alcoholic steatohepatitis progression.

J Hepatol. 2021 May 4:S0168-8278(21)00302-0. doi: 10.1016/j.jhep.2021.04.037.

Epub ahead of print. PMID: 33961941.

Hernández-Aguilera A, Casacuberta N, Castañé H, *et al.*

Nonalcoholic Steatohepatitis Modifies Serum Iron-Related Variables in Patients with Morbid Obesity.

Biol Trace Elem Res. 2021 Feb 8. doi: 10.1007/s12011-021-02610-8. Epub ahead of print. PMID: 33559024.

Cabré N, Gil M, Amigó N, Luciano-Mateo F, *et al.*

Laparoscopic sleeve gastrectomy alters ¹H-NMR-measured lipoprotein and glycoprotein profile in patients with severe obesity and nonalcoholic fatty liver disease.

Sci Rep. 2021 Jan 14;11(1):1343. doi: 10.1038/s41598-020-79485-7. PMID: 33446705; PMCID: PMC7809416.

Cabré N, Luciano-Mateo F, Baiges-Gayà G, *et al.*

Plasma metabolic alterations in patients with severe obesity and non-alcoholic steatohepatitis.

Aliment Pharmacol Ther. 2020 Feb;51(3):374-387. doi: 10.1111/apt.15606. Epub 2019 Dec 11. PMID: 31825539.

Cabré N, Luciano-Mateo F, Fernández-Arroyo S, *et al.*

Laparoscopic sleeve gastrectomy reverses non-alcoholic fatty liver disease modulating oxidative stress and inflammation.

Metabolism. 2019 Oct;99:81-89. doi: 10.1016/j.metabol.2019.07.002. Epub 2019 Jul 4. PMID: 31279739.

Castañé H, Baiges-Gaya G, Hernández-Aguilera A, *et al.*

Coupling Machine Learning and Lipidomics as a Tool to Investigate Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease. A General Overview.

Biomolecules. 2021 Mar 22;11(3):473. doi: 10.3390/biom11030473. PMID: 33810079; PMCID: PMC8004861.

Baiges-Gaya G, Fernández-Arroyo S, Luciano-Mateo F, *et al.*

Hepatic metabolic adaptation and adipose tissue expansion are altered in mice with steatohepatitis induced by high-fat high sucrose diet.

J Nutr Biochem. 2021 Mar;89:108559. doi: 10.1016/j.jnutbio.2020.108559. Epub 2020 Nov 29. PMID: 33264665.

Luciano-Mateo F, Cabré N, Baiges-Gaya G, *et al.*

Systemic overexpression of C-C motif chemokine ligand 2 promotes metabolic dysregulation and premature death in mice with accelerated aging.

Aging (Albany NY). 2020 Oct 26;12(20):20001-20023. doi: 10.18632/aging.104154. Epub 2020 Oct 26. PMID: 33104522; PMCID: PMC7655213.

Luciano-Mateo F, Cabré N, Fernández-Arroyo S, *et al.*

Chemokine C-C motif ligand 2 overexpression drives tissue-specific metabolic responses in the liver and muscle of mice.

Sci Rep. 2020 Jul 20;10(1):11954. doi: 10.1038/s41598-020-68769-7. PMID: 32686726; PMCID: PMC7371894.

Hernández-Alvarez MI, Sebastián D, Vives S, *et al.*

Deficient Endoplasmic Reticulum-Mitochondrial Phosphatidylserine Transfer Causes Liver Disease.

Cell. 2019 May 2;177(4):881-895.e17. doi: 10.1016/j.cell.2019.04.010. PMID: 31051106.