



- REVISTA DE -

MEDICINA DE LABORATORIO

**La metabolómica como
herramienta hacia la medicina
personalizada en diabetes
mellitus tipo 2**

**Metabolomics as a tool towards
personalized medicine in type 2
diabetes mellitus**

00053 Revisión

La metabolómica como herramienta hacia la medicina personalizada en diabetes mellitus tipo 2

Metabolomics as a tool towards personalized medicine in type 2 diabetes mellitus

Mariam Cortés Tormo¹, José Vicente Marcos Tomás², Vicente Giner Galvañ³ y Josep Redón i Mas⁴

¹Departamento de Análisis Clínicos. Hospital General de Almansa. Almansa, Albacete. ²Unidad de Enfermedades Metabólicas. Departamento de Análisis Clínicos. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia. ³Unidad de Hipertensión y Riesgo Cardiometabólico. Departamento de Medicina Interna. Hospital Universitario San Juan de Alicante. San Juan de Alicante. Alicante. Departamento de Medicina Clínica. Facultad de Medicina. Universidad Miguel Hernández. Elche, Alicante. ⁴Unidad de Hipertensión y Riesgo Cardiometabólico. Departamento de Medicina Interna. Hospital Clínico de Valencia. Departamento de Medicina Clínica. Universidad de Valencia. Valencia

Recibido: 20/10/2020

Aceptado: 02/01/2021

Correspondencia: Mariam Cortés Tormo. Departamento de Análisis Clínicos. Hospital General de Almansa. Avda. Circunvalación, s/n. 02640 Almansa, Albacete

e-mail: desampact@hotmail.com

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

RESUMEN

La metabolómica es una de las nuevas “disciplin-ómicas” incorporadas para el estudio fisiopatológico de distintas enfermedades. En esta revisión se resaltan las características principales que la definen, las metodologías e instrumentación empleadas para su desarrollo y las principales utilidades que proceden de los resultados obtenidos.

La diabetes *mellitus* tipo 2 es una patología que se caracteriza por presentar un continuo disglucémico que en fases tempranas se caracteriza por ser asintomático. Además, se engloba dentro de la definición de enfermedad multifactorial, junto con la patología cardiovascular y la enfermedad renal crónica. La medicina personalizada en este tipo de patologías es el futuro para poder abordar el manejo de los pacientes de manera individualizada.

Los resultados obtenidos en distintos estudios nos muestran la metabolómica como la herramienta que nos va a permitir abarcar todas las etapas que se producen en las distintas patologías: desde la predicción del riesgo, hasta, una vez diagnosticadas, la elección de terapias y el seguimiento de las mismas, permitiendo además personalizar estrategias de prevención y tratamiento de los pacientes afectos, según sus características individuales.

El aumento de publicaciones basadas en la metabolómica hace interesante difundir las bases, los planteamientos y los recursos que ofrece para obtener una alternativa a la hora de plantear enfoques de investigación, incluso, en ambientes alternativos a los grandes centros de producción científica.

Palabras clave: Metabolómica. Diabetes tipo 2. Enfermedad cardiovascular. Enfermedad renal.

ABSTRACT

Metabolomics is one of the new "disciplinomics" incorporated for the pathophysiological study of different diseases. This review highlights the main characteristics that define it, the methodologies and instrumentation used for its development and the main utilities that come from the results obtained.

Type 2 diabetes *mellitus* is a pathology characterized by presenting a dysglycemic continuum, which in early stages is characterized by being asymptomatic. In addition, it is included within the definition of multifactorial disease, together with cardiovascular disease and chronic kidney disease. Personalized medicine in this type of pathology is the future able to address the management of patients in an individualized way.

The results obtained in different studies show us metabolomics as the tool that will allow us to cover all the stages that occur in the different pathologies: from the prediction of risk, until, once diagnosed, the choice of therapies and follow-up, allowing also to personalize prevention and treatment strategies of affected patients, according to their individual characteristics.

The increase in publications based on metabolomics makes it interesting to disseminate the bases, approaches and resources it offers in order to obtain an alternative when proposing research approaches, even in environments that are alternative to large centers of scientific production.

Keywords: Metabolomics. Type 2 diabetes. Cardiovascular disease. Chronic kidney disease.

INTRODUCCIÓN

La diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) se puede considerar como uno de los principales problemas de salud a nivel mundial, entre otras razones por su elevada prevalencia, su alto coste económico y el

número de complicaciones y muertes prematuras que provoca (1,2). Según la Federación Internacional de Diabetes (IDF) a finales de la década pasada aproximadamente el 6 % de la población mundial (425 millones de personas entre 20-79 años) eran diabéticos, estimando que el número de personas con esta enfermedad llegará a 629 millones, un incremento del 48 %, en el año 2045 (3).

Sorprende que a pesar de tratarse de un proceso muy complejo desde el punto de vista de su patofisiología, su definición fenotípica sea tan pobre. De la necesidad de mejores definiciones nosológicas da cuenta la enorme variabilidad interindividual en la evolución y respuesta terapéutica.

Es esperable que un abordaje más individualizado basado en mecanismos patofisiológicos y no meramente clínicos, redunde en mejores resultados consecuencia de un diagnóstico precoz y medidas farmacológicas ajustadas al perfil de cada caso. Para lo cual, la metabolómica se postula como nueva metodología facilitadora de dicho enfoque.

PATOFISIOLOGÍA DE LA DIABETES *MELLITUS* TIPO 2

El continuo disglucémico

Patofisiológicamente, el fenómeno inicial que conduce a la DM2 es la resistencia a la insulina (RI) consecuencia de defectos en la señalización celular de dicha hormona en ciertos tejidos periféricos (hepático, muscular esquelético y adiposo), pudiendo manifestarse con distintos grados. El aumento progresivo de la RI promueve la producción pancreática de insulina como mecanismo compensatorio de la tendencia a la hiperglucemia. Esta hipersecreción insulínica termina provocando el fallo generalizado y apoptosis de la célula β -pancreática (4) así como hiperinsulinismo. Todo ello es consecuencia de la combinación de una serie de factores genéticos predisponentes (2,5) sobre los que impactan distintos factores ambientales (estilo de vida occidental, dietas ricas en grasas y sedentarismo) como

desencadenantes del proceso (2,6) en un continuo progresivo de deterioro del control del metabolismo glucídico que podemos denominar “continuo disglucémico” cuya fase final es la hiperglucemia franca como expresión principal, aunque no única, de la diabetes *mellitus*.

Desde un punto de vista clínico, partiendo de la RI, el espectro fenotípico del continuo disglucémico comprende formas previas a la diabetes como son la glucemia alterada en ayunas (GAA) y la tolerancia alterada a glucosa (TAG), que se engloban en la denominada prediabetes. Estas entidades reflejan la incapacidad creciente de la célula β -pancreática en responder a los estímulos glucémicos a lo largo de la historia natural de la progresión desde la normoglucemia a la DM2 (6), y se caracterizan por la ausencia de manifestaciones que adviertan de su existencia.

La DM2 se caracteriza por un largo periodo temporal asintomático de RI, hiperinsulinemia compensadora y grados variables de elevación moderada de la glucosa plasmática, asociados a un aumento del riesgo cardiovascular y a la aparición de enfermedad vascular, antes del diagnóstico, consecuencia del impacto negativo de la hormona sobre el endotelio de distintos órganos diana, tanto a nivel macro como microvascular (6). Por el papel central de la insulina a nivel de distintas vías metabólicas, el hiperinsulinismo induce, en sujetos predispuestos genéticamente, el desarrollo de obesidad, dislipemia e hipertensión arterial, reconocidos factores de riesgo cardiovascular. A la asociación observada entre riesgo vascular y RI se le denomina síndrome metabólico (SM) (6). La expresión paucisintomática de la DM2 expone al paciente a un riesgo cardiometabólico incrementado que provoca daño a nivel del corazón, los vasos sanguíneos, los riñones, los ojos y el sistema nervioso periférico tras décadas de esta exposición (7,8).

Como se observa en la figura 1, son varios los mecanismos fisiopatológicos en los que se apoya el concepto de “continuo

disglucémico” a través del espectro glucemia alterada y enfermedad cardiovascular (ECV) (6) (Fig. 1).

La aparición de ECV en sujetos con RI no tratada y aquellos con DM2, es un proceso progresivo cuyos cambios ocurren en un periodo de 20-30 años y se producen en paralelo a una serie de anomalías moleculares en las que el incremento progresivo de la RI y el hiperinsulinismo compensatorio asociado son cruciales (6).

Factores genéticos y metabólicos implicados en la DM2

Aunque existen marcadores genéticos que se han asociado al desarrollo de DM2, en la mayoría de casos la herencia es poligénica, lo que dificulta la obtención de marcadores genéticos de riesgo (2). La Genome Wide Association (GWAS) ha realizado un catálogo con los *loci* genéticos relacionados con el desarrollo de DM2 en el que se incluyen más de 100 variantes, sin embargo, estas variantes genéticas solo explican una fracción inesperadamente pequeña (< 15 %) de la herencia estimada (9). Como otros marcadores genéticos de riesgo se han identificado alrededor de 60 SNPs (*single nucleotide polymorphism*) (10-12), muchos de ellos relacionados con la biología de las células β -pancreáticas y patologías asociadas como la obesidad (13), lo que refrenda la estrecha relación patofisiológica entre los distintos componentes constitutivos del síndrome metabólico (14).

Estudios realizados con sistemas de integración de datos moleculares específicos de tejido han revelado algunos procesos y mecanismos que relacionan tejido y enfermedad, como la fosforilación oxidativa en hígado y tejido adiposo, la oxidación de ácidos grasos, la señalización de los PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptors*) y la diferenciación de células adiposas en RI, DM2 y obesidad, y el ciclo de regulación celular específico de islote pancreático en DM2 (15). Las rutas metabólicas que se encuentran afectadas por la insulina coinciden con algunas de las descritas anteriormente, siendo las más conocidas el metabolismo de la glucosa, el de los aminoácidos, el de los lípidos y el ciclo de Krebs (16). En esta línea, se han identificado

varios sistemas claves en el control de las enzimas que modulan la homeostasis energética celular, cuya alteración podría verse implicada en la génesis de la DM2: la proteína cinasa dependiente de AMP (AMPK), los PPAR, la leptina y la adiponectina. Sistemas cuyo comportamiento responde a factores ambientales, además de genéticos (17).

La AMPK es un sensor del estado nutricional y metabólico de la célula relacionado con la estimulación de la oxidación de los ácidos grasos al fosforilar a la acetil-CoA carboxilasa (ACC), lo cual intensifica la oxidación de ácidos grasos en la mitocondria (17,18). Las hormonas secretadas por el tejido adiposo, leptina y adiponectina activan la AMPK tanto en el tejido adiposo como en los tejidos periféricos, incluyendo el músculo esquelético e hígado, aumentando el consumo de energía. A su vez, la activación de la AMPK inicia la activación de los PPAR- γ , que promueven la expresión de enzimas que participan en la oxidación de ácidos grasos (17) (Fig. 2).

Los PPAR- γ pertenecen a una amplia familia de receptores nucleares que actúan como activadores de la transcripción y se expresan principalmente en el tejido adiposo, habiéndose descrito un polimorfismo del gen de PPAR- γ que confiere resistencia a desarrollar DM2. De forma coherente, los portadores de este polimorfismo presentan niveles elevados de adiponectina, mientras que los no portadores, presentan niveles bajos (17), objetivándose niveles bajos en sujetos obesos, con RI, DM2 o dislipemia. La expresión de la adiponectina se incrementa por los agonistas de los PPAR, mientras que el TNF- α y la interleucina 6 la inhiben (17) (Fig. 2).

Asimismo, se ha relacionado el gen de la leptina con el desarrollo posterior de obesidad y DM2. La leptina es sintetizada principalmente por el tejido adiposo y su sobreexpresión reduce la expresión de ACC, enzima clave en la síntesis de ácidos grasos. La leptina también puede inhibir la lipogénesis en hígado, islotes pancreáticos y en tejido adiposo y estimular la oxidación de ácidos grasos. Este mecanismo

involucra la estimulación directa de la AMPK, la cual, al fosforilarse, inhibe a la ACC (17) (Fig. 2).

En el complejo esquema de relaciones que ilustra la figura 2, es evidente que el punto de regulación de la síntesis y la oxidación de ácidos grasos en los adipocitos representa un punto estratégico en la patofisiología de desórdenes metabólicos relacionados a través de distintas vías como la obesidad, la diabetes y el síndrome metabólico (SM) (17).

Por otro lado, la hiperglucemia y la DM2 están directamente relacionadas con la producción elevada de especies reactivas de oxígeno (ROS) y bajos niveles de ATP, lo que genera un cambio en el estado redox y la homeostasis celular, desencadenando disfunción mitocondrial (18) que a su vez contribuye al desarrollo de RI dependiente de la edad (6). La biogénesis de las mitocondrias contribuye a regular el balance energético, y se cree que una mayor producción de ROS por la cadena de transporte de electrones, en condiciones de hiperglucemia, exacerba la alteración de las vías metabólicas, lo que conduce a complicaciones microvasculares (nefropatía, retinopatía y neuropatía) y complicaciones macrovasculares (ictus e isquemia de miocardio), incluso después de que se normalice la concentración de glucosa (6,18). Según el grupo de You y cols., la hormesis mitocondrial en la DM2 implica una reducción de la producción de ROS y una reducción de la síntesis de ATP en diferentes tejidos en respuesta a niveles altos de glucosa (19). Este efecto puede activar sirtuína 1/3 (SIRT1/3), AMPK y PGC-1 α (coactivador 1 α de PPAR- γ), restaurando así la función mitocondrial y aumentando la sensibilidad a la insulina en las células β , el hígado y el músculo, lo que, a su vez, evita complicaciones vasculares (18). En situaciones de estrés metabólico y oxidativo, debido a que las células β carecen de ciertas enzimas antioxidantes que eliminan las ROS, el aumento de su producción promueve su disfunción y apoptosis (13).

HETEROGENEIDAD FENOTÍPICA Y NECESIDAD DE MEJORES MARCADORES EN DM2

Existe una gran variabilidad genotípica y fenotípica en los individuos que desarrollan DM2. La heterogeneidad interindividual y variabilidad entre genoma y fenotipo es consecuencia de complejas variantes de interacción entre los múltiples sistemas biológicos implicados en la génesis de la disglucemia. Contrasta con esta heterogeneidad molecular interindividual la pobreza definitoria del fenotipo que actualmente denominamos DM2, basada en un solo rasgo fenotípico como es la glucemia y una absoluta ausencia de marcadores individuales de evolución o de respuesta terapéutica, por lo que las medidas terapéuticas suelen ser generalizadas a todos los diabéticos, siendo la respuesta a las mismas muy diversa y poco predecible.

El conocimiento de vías moleculares implicadas en la génesis de la DM2 abre un gran abanico de actuación, dirigida en función de la situación en la que se encuentre el paciente a lo largo del continuo disglucémico e incluso según el mecanismo patofisiológico predominante en cada individuo, contemplando potenciales respuestas individuales a cambios en el estilo de vida (20) hasta el desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en los distintos mecanismos involucrados en la DM2 y en las patologías subyacentes, como podría ser la inhibición de enzimas clave involucradas en el daño vascular inducido por hiperglucemia o la activación de vías de señalización que mejoren la sensibilidad a la insulina (6).

En este conjunto de patologías multifactoriales nos encontramos con la necesidad de nuevos marcadores moleculares que mejoren nuestra capacidad de manejar de una forma realmente individualizada patologías tan heterogéneas en su expresión fenotípica como es la DM2. Ello permitiría para cada individuo en riesgo un diagnóstico precoz basado en el momento evolutivo patofisiológico de cada uno, facilitando al mismo tiempo establecer dianas terapéuticas individualizadas. Es lo que en la actualidad se viene llamando “Medicina personalizada”, y donde el desarrollo de las disciplinas “-

ómicas” tiene un gran potencial como indicadores para el desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en los mecanismos involucrados en el desarrollo de la disglucemia de un individuo concreto. Dentro de estas nuevas estrategias se enmarca la metabolómica.

METABOLÓMICA

Fundamentos de la metabolómica

La metabolómica es la disciplina científica, dentro de las “ómicas”, encargada de estudiar los metabolitos, pequeñas moléculas orgánicas (< 1500 Da) que intervienen en los diferentes procesos celulares y que nos revelan cómo está funcionando el metabolismo, desde una célula hasta un ser vivo. El conjunto de estos metabolitos es denominado metaboloma (21,22). Se estima que hay más de 2.000 metabolitos diferentes que son sintetizados de forma endógena además de los metabolitos exógenos, incorporados en la dieta junto con los producidos por la flora intestinal (23). *The Serum Metabolome* es una base de datos gratuita que contiene información detallada sobre los 4651 metabolitos descritos en el suero humano hasta la fecha, integrada en la plataforma *Human Metabolome Database (HMDB)*, donde también podemos encontrar los metabolitos presentes en otras muestras biológicas como pueden ser la orina, la saliva el líquido cefalorraquídeo (LCR), el sudor y las heces (22).

La metabolómica permite estudiar los perfiles metabólicos en muestras biológicas con la finalidad de descubrir en poblaciones con enfermedades o factores de riesgo, biomarcadores más sensibles y específicos que los actualmente disponibles (21,24). Los procesos reguladores en el ADN afectan a la expresión de moléculas de procesos posteriores, como los ARN, las proteínas y los metabolitos. Los efectos de los diferentes elementos reguladores son aditivos. La biología de sistemas intenta analizar las interacciones entre las diferentes entidades moleculares para ofrecer una visión holística de

los procesos biológicos y las alteraciones patológicas que se producen en la enfermedad (23). Por esto, a diferencia del genoma, el proteoma y el metaboloma son dinámicos y están mucho más próximos a la expresión fenotípica final de la enfermedad, lo que conceptualmente los dotaría de mayor especificidad (23) (Fig. 3).

El metaboloma integra la información biológica del genoma, el transcriptoma, el proteoma y las reacciones enzimáticas generales de un individuo, lo que permite la detección de cambios fisiológicos o patológicos a corto y largo plazo que conducen a la enfermedad (25).

Aspectos metodológicos

Las técnicas metabolómicas nos permiten medir simultáneamente un gran número de metabolitos en un único proceso, lo que permite acceder a la detección de un número elevado de biomoléculas simultáneamente, de manera cualitativa o cuantitativa, y además, poder conjugar la información que ofrecen todas ellas paralelamente en un mismo entorno, ya sea fisiológico o patológico. El manejo de esa información facilita la elaboración de algoritmos multiparamétricos que ayudan a evaluar riesgos o establecer pronósticos, permitiendo individualizar la actuación sobre cada proceso al situar a cada paciente dentro de grupos clínicos más precisos que los meramente basados en fenotipos clínicos (23). Estas herramientas también permiten un análisis de datos que proporciona correlaciones a través del metabolismo, demostrando la alta interconectividad y complejidad de las vías metabólicas (26).

Respecto de otras metodologías “clásicas”, la ventaja de la metabolómica es que puede utilizarse para comparaciones de muestras clínicas no sujetas a ninguna hipótesis, lo cual ha sido posible gracias a las mejoras alcanzadas en la sensibilidad y la exactitud de los espectrómetros de masas, al desarrollo de mejores técnicas de separación, junto con nuevos métodos de marcado y la disponibilidad de bases de datos para comparar y analizar series de datos de creciente complejidad (23).

Contamos con tres técnicas para obtener los patrones metabolómicos a partir de muestras como: biofluidos, biopsias y tejidos (27). La espectroscopía basada en la resonancia magnética de protón (H-NMR), que puede detectar, en principio, cualquier sustancia orgánica por la característica de poseer protones. La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS), mediante la cual metabolitos que previamente han sido vaporizados y separados a través de una columna dependiendo del tiempo de vaporización (CG), posteriormente son ionizados, acelerados y, finalmente, identificados espectrométricamente según su relación masa/carga (m/q). Finalmente, la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas (LC-MS), que difiere de la anterior en que los metabolitos se separan de acuerdo a su solubilidad con respecto a la fase móvil líquida y en contra de la fase estacionaria, de distinta polaridad que la fase líquida, que se encuentra en el interior de la columna cromatográfica (24,26,28). Estas técnicas son particularmente apropiadas en patologías como DM2, obesidad y desórdenes relacionados con las mismas, ya que son en su conjunto trastornos poligénicos (26).

En cuanto a las principales diferencias que podemos encontrar entre las distintas técnicas, las más significativas son las encontradas entre H-NMR y MS, ya que sendos métodos son de detección. En la tabla I se muestran las principales diferencias entre ambas metodologías (27).

METABOLÓMICA EN LA DM2

Marcadores metabolómicos de desarrollo de DM2

Se han relacionado distintas rutas metabólicas que pronostican el desarrollo de DM2, como son las rutas implicadas en el estrés oxidativo, regulación de lípidos o inflamación. Se ha demostrado que existe una reducción de la actividad de los sistemas antioxidantes en suero de sujetos con DM2, como glutatión, vitamina C o vitamina E, entre otros. En cuanto a los marcadores lipídicos se ha demostrado

que el aumento de la adiponectina, proteína reguladora del metabolismo de glucosa y lípidos y potenciadora de la acción de la insulina a nivel hepático, se relaciona con una disminución de la incidencia de DM2, mientras que su disminución se asocia con aumento de obesidad. Por último, en cuanto a marcadores inflamatorios, niveles elevados de IL-18 en suero, están relacionados con un aumento en el riesgo de padecer DM2, independientemente del estado inflamatorio general (29).

En un estudio realizado por Gall y cols. (30), se utilizó un enfoque metabolómico no dirigido para identificar los metabolitos plasmáticos asociados con el desarrollo de RI y/o intolerancia a la glucosa. Los dos metabolitos mejor asociados fueron un ácido orgánico, el α -hidroxibutirato (α -HB) y un fosfolípido, el 1-linoleoil-glicerofosfolina (L-GPC) (30). También el grupo de Ferrannini y cols. (31) propuso los niveles de α -HB y L-GPC en ayunas como nuevos biomarcadores para ayudar a predecir la disglucemia y la DM2 (31). Estos perfiles metabólicos no dirigidos representan una nueva herramienta que permite el estudio exhaustivo del metabolismo y de las redes metabólicas para obtener información sobre el fenotipo e identificar nuevos biomarcadores (32).

En dos estudios acerca de la predicción de desarrollar DM2 realizados por los grupos de Wang y cols. (33) y McKillop y cols. (29), se demuestra la relevancia que tiene el metabolismo de los aminoácidos al principio de la patogénesis de la DM2 y sugiere que ciertos perfiles de aminoácidos, como es el caso de isoleucina, leucina, valina, tirosina y fenilalanina, se relacionan con el riesgo de desarrollar la enfermedad (29,33). Hallazgo confirmado por múltiples estudios posteriores que relacionan niveles elevados de aminoácidos ramificados (BrAA) y aromáticos (ArAA) con individuos que presentan resistencia a la insulina (RI), obesidad y DM2, además de estar relacionados con la predicción de la progresión de la DM2 (32).

Otros dos grupos de investigación realizaron una revisión sistemática para identificar los posibles metabolitos que permitan relacionar DM1

y/o DM2 (34), como es el caso del grupo de Borros y cols. y para identificar los posibles metabolitos que permitan predecir el estado de prediabetes y la DM2 (35), como es el caso del grupo de Guash-Ferré y cols. En sendos estudios se describen distintos compuestos bioquímicos agrupados dentro de aminoácidos, ácidos orgánicos, ácidos grasos, lípidos, hidratos de carbono y cuerpos cetónicos, los cuales ofrecen una visión de cómo se comportan los distintos metabolitos dentro de la patología diabética (34,35). En la tabla II se agrupan los distintos metabolitos, a los que hacen referencia las revisiones y los estudios mencionados, dentro de cada uno de los posibles estados de la DM y cómo se ven implicados en cada uno de ellos.

En la figura 4 se puede observar las relaciones de los metabolitos plasmáticos citados en los estudios y revisiones anteriores con respecto al desarrollo, la progresión y el riesgo de desarrollar prediabetes y DM2. Se pueden englobar a los metabolitos α -hidroxibutirato, β -hidroxibutirato y 1-linoleoil-glicerofosfolina (L-GPC) como posibles predictores de prediabetes, apareciendo antes de que se dé la resistencia a la insulina (RI) y la tolerancia alterada a la glucosa (TAG) (30,31). El estado disglucémico de prediabetes ya presenta niveles elevados de aminoácidos de cadena ramificada (BrAA), aminoácidos aromáticos (ArAA) (29,33) y de la relación glutamato/glutamina (Glu/Gln) (34,35). Previa a la instauración del estado disglucémico de DM2, también aumentan los niveles de BrAA, ArAA y β -hidroxibutirato y la relación Glu/Gln (29,33-35), donde además se ha observado una relación entre el aumento de BrAA, ArAA y la RI (32). Una vez instaurada la DM2, se produce un mayor aumento de los metabolitos descritos.

Marcadores metabolómicos de respuesta farmacológica

El manejo de la DM2 es complejo y sus complicaciones siguen siendo una gran carga para los pacientes y para la sociedad en general. Las tasas de respuesta incompleta a la terapia y la disminución de la

duración de la respuesta con el tiempo, en la mayoría de los fármacos antidiabéticos, enfatizan la necesidad de intervenciones personalizadas para mantener un control glucémico adecuado y mantenido en el tiempo (36). Fenómeno significativo en la DM2 es además la pérdida generalizada de respuesta terapéutica a los fármacos en el tiempo, que exhibe perfil dependiente de la familia terapéutica considerada y de cada paciente. Se piensa que la respuesta variable e incompleta al tratamiento es debida, entre otros, a variaciones genéticas que afectan el metabolismo del medicamento. En algunos casos estas variaciones pueden implicar una mayor eficacia al tratamiento, como los pacientes que tienen variantes en el gen que codifica el citocromo P450 2C9 y que tienen un aclaramiento de sulfonilureas disminuido, o como los portadores de ciertas variantes en PPAR- γ , que regula el almacenamiento de ácidos grasos y el metabolismo de la glucosa, que muestran mayores disminuciones en los niveles de glucosa en sangre y HbA1c, en respuesta a rosiglitazona y pioglitazona, que los no portadores (12).

En el estudio realizado por el grupo de den Ouden y cols. se observaron los cambios producidos en los metabolitos plasmáticos de pacientes con DM2, con una hemoglobina glicosilada (HbA1c) > 6,5 %, durante 5 años de tratamiento con metformina y/o sulfonilureas. Son varios los metabolitos detectados en este estudio, pero los más significativos para definir a la metformina como mejor tratamiento en base a la disminución de la HbA1c en estos pacientes fueron la elevación del ácido 3-OH-butanoico y la disminución de la 2-OH-piperidina y la 4-oxoprolina. Estos metabolitos también se vieron afectados de la misma manera en el tratamiento combinado con metformina y sulfonilureas, mientras que el 1,5 anhidroglucitol se vio significativamente elevado en el tratamiento combinado (36). Estudios con distintos hipoglucemiantes orales nos llevan a pensar que la metabolómica puede ser utilizada como herramienta para identificar potenciales biomarcadores predictores de la respuesta a tratamientos antidiabéticos (36,37).

Predictores metabólicos de complicaciones crónicas

Según la American Diabetes Association (ADA), la DM2 se considera una ECV de origen metabólico ya que más del 80 % de la morbimortalidad de los diabéticos es de tipo cardiovascular, mientras que menos del 1 % de la mortalidad es atribuible a trastornos derivados del descontrol metabólico (38), de ahí la especial relevancia de contar con marcadores de riesgo de desarrollo de complicaciones individualizables, siendo de marcado interés la detección de predictores de enfermedad renal y su evolución.

En esta línea, Liu y cols. (39) compararon muestras de plasma de 15 controles sanos, 13 pacientes con enfermedad coronaria (EC), 15 pacientes con DM2 y 28 pacientes con DM2 y EC. Se identificaron 11 y 12 metabolitos representativos de EC y DM2 respectivamente, que incluyeron principalmente alanina, arginina, prolina, glutamina, creatinina y acetato. Los resultados demostraron que con el enfoque metabólico basado en la H-NMR se obtenía un buen rendimiento para identificar biomarcadores diagnósticos en plasma y que la mayoría de los metabolitos identificados relacionados con la DM2 y la EC podrían considerarse factores predictivos de EC, así como dianas terapéuticas para la prevención(39) (Fig. 5).

En otro estudio se recurrió a la investigación del metaboloma para evaluar la progresión de enfermedad renal crónica (ERC). Rhee y cols. (40) elaboraron perfiles metabólicos en plasma de 400 pacientes con disfunción renal en un estudio de casos (n = 200) y controles (n = 200). Los casos correspondían a sujetos con una rápida progresión de su enfermedad renal, elegidos al azar entre individuos con deterioro de la función renal progresivo definido como pérdida de TFGe de 3 mL/min/1,73 m²/año o mayor. Los controles correspondían a población con disfunción renal estable en el tiempo definida como aquella con descenso de TFGe inferior a 3 mL/min/1,73 m²/año. Aproximadamente el 50 % de los casos y controles eran diabéticos. Nuevamente se vio

que los aminoácidos arginina, metionina y treonina eran indicadores de mal pronóstico de la función renal, encontrándose disminuidos en los pacientes control (40). Son varios los estudios sobre pacientes con distintas patologías renales donde se llega a la conclusión de que la metabolómica es una ciencia prometedora para su diagnóstico temprano, aumentando las posibilidades de la elección de una terapia adecuada, además de permitir la identificación de nuevas rutas metabólicas las cuales pueden estar dirigidas específicamente a la patología renal (41).

CONCLUSIONES

En patologías como la DM2, la enfermedad renal crónica o la enfermedad cardiovascular, con un complejo conjunto de interacciones entre factores ambientales y genética, y en las que se observan múltiples cambios en los perfiles bioquímicos del organismo, la metabolómica nos da la posibilidad de encontrar potenciales marcadores para el diagnóstico y la elección de sus terapias de forma individualizada (29,42). También, a nivel epidemiológico podría servir para la detección de grupos de población normoglucémica pero con riesgo de desarrollar DM2.

Una de las principales carencias de evidencia en el manejo de la DM consiste en la estratificación del riesgo cardiovascular. Los cálculos de riesgo disponibles siguen siendo deficientes en varios niveles, mientras que faltan biomarcadores fiables y rentables. Por lo tanto, el descubrimiento de nuevos biomarcadores es un desafío importante en esta área (43). Por este motivo, el desarrollo de la medicina personalizada va a permitir evaluar los riesgos médicos, monitorizar, diagnosticar y tratar a los pacientes de acuerdo con su composición genética específica y su fenotipo molecular (44).

La metabolómica, a nivel clínico y epidemiológico, proporciona una oportunidad única para poder observar de una forma más global las relaciones entre el genotipo y el fenotipo, así como las respuestas de un organismo en relación con los factores ambientales.

Fundamentalmente, proporciona información sobre los factores que influyen en las enfermedades, permitiendo entender su patogénesis, obtener un diagnóstico temprano, una terapia adecuada y la monitorización de la misma (29). Además, permite acceder a la elaboración y perfeccionamiento de estos perfiles y, aunque hasta ahora su uso no ha conseguido una mejora sustancial en la evaluación del riesgo de padecer DM2, ya que se necesita un elevado número de datos multiparamétricos para una correcta evaluación del riesgo en el caso de una patología multifactorial, sí nos permite progresar en el conocimiento de la patología y realizar nuevos enfoques que puedan llevarnos hasta nuevos y efectivos biomarcadores de riesgo en un futuro intermedio (45). Seguramente, este análisis de datos multivariantes es la principal limitación que tienen los estudios metabolómicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cases MM. Coste actual de la diabetes mellitus en España: el estudio eCostesDM2. Suplemento extraordinario Diabetes Práctica 2013:6.
2. Ruiz-Ramos M, Escolar-Pujolar A, Mayoral-Sánchez E, Corral-San Laureano F, Fernández-Fernández I. La diabetes mellitus en España: mortalidad, prevalencia, incidencia, costes económicos y desigualdades. Gaceta Sanitaria 2006;20:15-24.
3. International Diabetes Federation (IDF). Diabetes Atlas. 8th edition. 2017; Available from: www.diabetesatlas.org; 2017.
4. Berlanga E, Casamitjana R. Estudio de la función pancreática endocrina en el laboratorio clínico. SEQC; 2004.
5. DiStefano JK, Watanabe RM. Pharmacogenetics of anti-diabetes drugs. Pharmaceuticals 2010;3(8):2610-46.
6. Rydén L, Grant PJ, Anker SD, Berne C, Cosentino F, Danchin N, et al. Guía de práctica clínica de la ESC sobre diabetes, prediabetes y enfermedad cardiovascular, en colaboración con

- la European Society for the Study of Diabetes. *Rev Esp Cardiol* 2014;67(2).
7. Jakab Z. Data and statistics DM. Available from: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/diabetes/data-and-statistics>.
 8. Giner V, Coca A, de La Sierra A. Increased insulin resistance in salt sensitive essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2001;15(7):481-5.
 9. Yengo L, Arredouani A, Marre M, Roussel R, Vaxillaire M, Falchi M, et al. Impact of statistical models on the prediction of type 2 diabetes using non-targeted metabolomics profiling. *Molecular Metabolism* 2016;5(10):918-25.
 10. Watanabe RM. Drugs, diabetes and pharmacogenomics: the road to personalized therapy. *Pharmacogenomics* 2011;12(5):699-701.
 11. Mihaescu R, Meigs J, Sijbrands E, Janssens AC. Genetic risk profiling for prediction of type 2 diabetes. *PLoS Curr* 2011;3:RRN1208.
 12. Johansen Taber KA, Dickinson BD. Genomic-based tools for the risk assessment, management, and prevention of type 2 diabetes. *Appl Clin Genet* 2015;8:1-8.
 13. Halban PA, Polonsky KS, Bowden DW, Hawkins MA, Ling C, Mather KJ, et al. β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(6):1983-92.
 14. Rochlani Y, Pothineni NV, Kovelamudi S, Mehta JL. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 2017;11(8):215-25.
 15. Meng Q, Mäkinen V, Luk H, Yang X. Systems biology approaches and applications in obesity, diabetes, and cardiovascular diseases. *Current Cardiovascular Risk Reports* 2013;7(1):73-83.

16. Dutta T, Chai HS, Ward LE, Ghosh A, Persson XM, Ford GC, et al. Concordance of changes in metabolic pathways based on plasma metabolomics and skeletal muscle transcriptomics in type 1 diabetes. *Diabetes* 2012;61(5):1004-16.
17. Aguilera KGC, Sánchez SC. Señales Moleculares que modulan el metabolismo energetico: implicaciones en el desarrollo de obesidad, diabetes y cardiopatías. Facultad de medicina UNAM : Mensaje Bioquímico Edit; 2009.
18. Rovira-Llopis S, Bañuls C, Diaz-Morales N, Hernandez-Mijares A, Rocha M, Victor VM. Mitochondrial dynamics in type 2 diabetes: pathophysiological implications. *Redox biology* 2017;11:637-45.
19. You YH, Quach T, Saito R, Pham J, Sharma K. Metabolomics Reveals a Key Role for Fumarate in Mediating the Effects of NADPH Oxidase 4 in Diabetic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2016;27(2):466-81.
20. Langenberg C, Sharp SJ, Franks PW, Scott RA, Deloukas P, Forouhi NG, et al. Gene-lifestyle interaction and type 2 diabetes: the EPIC interact case-cohort study. *PLoS Medicine* 2014;11(5):e1001647.
21. Sirilli V, Rossi C, Di Castelnuovo A, Felaco P, Amoroso L, Zucchelli M, et al. Toward personalized hemodialysis by low molecular weight amino-containing compounds: future perspective of patient metabolic fingerprint. *Blood Transfus* 2012;10(Suppl 2):s78-88.
22. Psychogios N, Hau DD, Peng J, Guo AC, Mandal R, Bouatra S, et al. The human serum metabolome. *PloS one* 2011;6(2):e16957.
23. Barallobre-Barreiro J, Chung Y, Mayr M. La proteómica y la metabolómica: los mecanismos de la enfermedad cardiovascular y el descubrimiento de biomarcadores. *Rev Esp Cardiol* 2013;66(8):657-61.

24. DeHaven CD, Evans AM, Dai H, Lawton KA. Organization of GC/MS and LC/MS metabolomics data into chemical libraries. *J Cheminform* 2010;2(1):9.
25. Pena MJ, Heinzl A, Rossing P, Parving H, Dallmann G, Rossing K, et al. Serum metabolites predict response to angiotensin II receptor blockers in patients with diabetes mellitus. *J Transl Med* 2016;14(1):203.
26. Griffin JL, Vidal-Puig A. Current challenges in metabolomics for diabetes research: a vital functional genomic tool or just a ploy for gaining funding? *Physiol Genomics* 2008;34(1):1-5.
27. Tognarelli JM, Dawood M, Shariff MI, Grover VP, Crossey MM, Cox IJ, et al. Magnetic resonance spectroscopy: principles and techniques: lessons for clinicians. *J Clin Exp Hepatol* 2015;5(4):320-8.
28. Kelly AD, Breitkopf SB, Yuan M, Goldsmith J, Spentzos D, Asara JM. Metabolomic profiling from formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue using targeted LC/MS/MS: application in sarcoma. *PloS one* 2011;6(10):e25357.
29. McKillop AM, Flatt PR. Emerging applications of metabolomic and genomic profiling in diabetic clinical medicine. *Diabetes Care* 2011;34(12):2624-30.
30. Gall WE, Beebe K, Lawton KA, Adam K, Mitchell MW, Nakhle PJ, et al. α -Hydroxybutyrate is an early biomarker of insulin resistance and glucose intolerance in a nondiabetic population. *PLoS One* 2010;5(5):e10883.
31. Ferrannini E, Natali A, Camastra S, Nannipieri M, Mari A, Adam KP, et al. Early metabolic markers of the development of dysglycemia and type 2 diabetes and their physiological significance. *Diabetes* 2013;62(5):1730-7.
32. Sarosiek K, Pappan KL, Gandhi AV, Saxena S, Kang CY, McMahon H, et al. Conserved metabolic changes in nondiabetic and type 2 diabetic bariatric surgery patients: global

- metabolomic pilot study. *Journal of diabetes research* 2016;2016.
33. Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, Cheng S, Rhee EP, McCabe E, et al. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat Med* 2011;17(4):448.
 34. Arneith B, Arneith R, Shams M. Metabolomics of type 1 and type 2 diabetes. *International Journal of Molecular Sciences* 2019;20(10):2467.
 35. Guasch-Ferre M, Hruby A, Toledo E, Clish CB, Martinez-Gonzalez MA, Salas-Salvado J, et al. Metabolomics in Prediabetes and Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabetes Care* 2016;39(5):833-46.
 36. den Ouden H, Pellis L, Rutten GEHM, Geerars-van Vonderen IK, Rubingh CM, van Ommen B, et al. Metabolomic biomarkers for personalised glucose lowering drugs treatment in type 2 diabetes. *Metabolomics* 2016;12(2):1-9.
 37. Dong Y, Chen Y, Yang Y, Shou D, Li C. Urinary Metabolomic Profiling in Zucker Diabetic Fatty Rats with Type 2 Diabetes Mellitus Treated with Glimepiride, Metformin, and Their Combination. *Molecules* 2016;21(11):1446.
 38. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2009. *Diabetes Care* 2009;32(Suppl 1):S13-61.
 39. Liu X, Gao J, Chen J, Wang Z, Shi Q, Man H, et al. Identification of metabolic biomarkers in patients with type 2 diabetic coronary heart diseases based on metabolomic approach. *Sci Rep* 2016;6:30785.
 40. Rhee EP, Clish CB, Wenger J, Roy J, Elmariah S, Pierce KA, et al. Metabolomics of Chronic Kidney Disease Progression: A Case-Control Analysis in the Chronic Renal Insufficiency Cohort Study. *Am J Nephrol* 2016;43(5):366-74.
 41. Weiss RH, Kim K. Metabolomics in the study of kidney diseases. *Nat Rev Nephrol* 2012;8(1):22-33.

42. Rasmussen LG, Winning H, Savorani F, Toft H, Larsen TM, Dragsted LO, et al. Assessment of the effect of high or low protein diet on the human urine metabolome as measured by NMR. *Nutrients* 2012;4(2):112-31.
43. Paneni F, Costantino S. Diabetes and cardiovascular disease: let's push forward with translational research. *Cardiovasc Diagn Ther* 2015;5(5):407-11.
44. Chen R, Mias GI, Li-Pook-Than J, Jiang L, Lam HY, Chen R, et al. Personal omics profiling reveals dynamic molecular and medical phenotypes. *Cell* 2012;148(6):1293-307.
45. Friedrich N. Metabolomics in diabetes research. *J Endocrinol* 2012;215(1):29-42.

Tabla I. Tabla comparativa de la Resonancia magnética nuclear de protón (H-NMR) y la espectroscopía de masas (MS) (27)

	H-RMN	MS
Sensibilidad	Menor (nanomolar)	Mayor (picomolar)
Reproducibilidad	Elevada	Moderada
Degradación de la muestra	No	Sí
Accesibilidad a la	Muy difícil	Difícil

tecnología		
Identificación de metabolitos	Bien categorizada	Compleja

Modificación de la original.

Tabla II. Metabolitos relacionados con DM2, prediabetes y DM1

Metabolitos	DM1	DM2	Prediabetes
Aminoácidos	↑ Aa aromáticos (tirosina y fenilalanina) (34)	↑ Aa aromáticos (tirosina y fenilalanina) (29,33,35)	↑ Aa aromáticos (tirosina y fenilalanina) (29,33,35)
	↑ Aa de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina) (34)	↑ Aa de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina) (29,33-35)	↑ Aa de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina) (29,33,35)
		↑ Ratio glutamato/ glutamina (34,35) ↓ Glicina(35)	
Ácidos grasos	↑ Ác. palmítico, ác. esteárico y ác. misístico (34)	↑ Ác. dodecanoico (34), ác. palmítico, ác. esteárico, ác. misístico (35)	↑ Ác. palmítico, ác. esteárico y ác. misístico (35)
Lípidos	↓ Esfingomielina y	↑ Esfingomielina y glicerofosfolípidos	↑ 1-linoleiol-glicerofosfoco

		(34) ↓ Esfingomielina y glicerofosfolípidos (35)	
	glicerofosfolípidos (34)	↑ Fosfatidilcolina (35) ↑ 1-linoleoil-glicerofosfocolina (30,31) ↓ Alquilfosfatidilcolina (35)	lina (30,31)
Cuerpos cetónicos		↑ β-OH-butirato, 3-OH-butirato (35) y α-OH-butirato (30,31)	↑ β-OH-butirato, 3-OH-butirato (34) y α-OH-butirato (30,31)
Alcoholes		↓ 1,5 anhidroglucitol (34,35)	
Hidratos de carbono		↑ Glucosa, dihexosa, manosa, arabinosa y fructosa (34,35)	↑ Glucosa, dihexosa, manosa, arabinosa y fructosa (35)
Ácidos orgánicos		↑↑ Acilcarnitinas (C2, C3, C6, C8 y C10) (35)	↑ Acilcarnitinas (C2) (35)
		↑ Ác. acético, dimetil ester y ac. maleico (34,35)	↑ Ác. acético, dimetil ester y ác. maleico

		(35)
	↓ Propionilcarnitina (35)	
	↑ Arginina, citrulina y ornitina (34,35)	↑ Arginina, citrulina y ornitina (35)

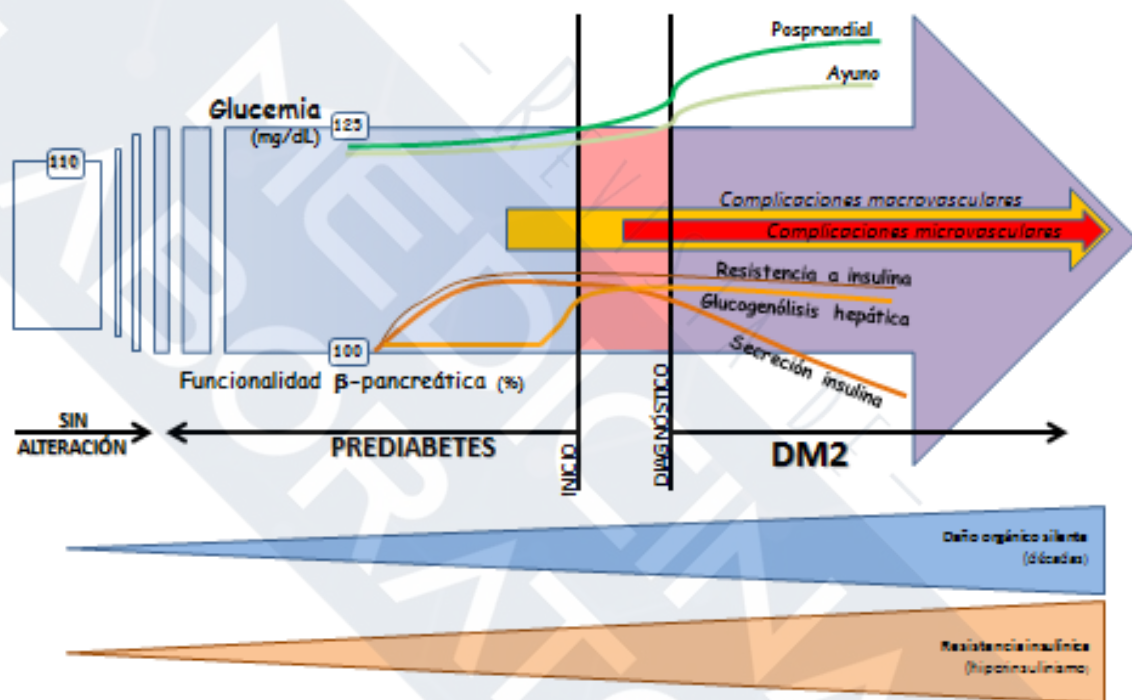


Fig. 1. Continuo disglucémico y ECV. La flecha indica la evolución desde el estado de normoglucemia al estado de DM2, en paralelo con alteraciones en la glucemia y las distintas implicaciones que conlleva dicho proceso (6).

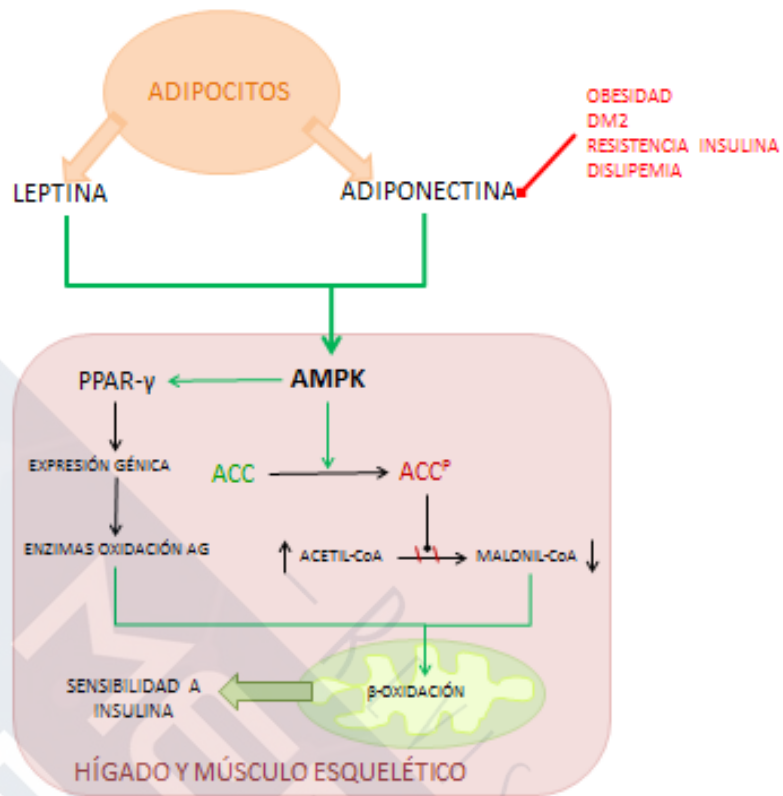


Fig. 2. Estimulación de AMPK a través de adiponectina y leptina. Tras la activación de AMPK se activa PPAR y se fosforila ACC (ACC^P) quedando inactiva. Esto provoca un aumento de la β-oxidación de ácidos grasos y una serie de reacciones en hígado y músculo que favorecen la sensibilidad a la insulina, evitando el desarrollo de DM2 (PPAR: receptor de activación de factores de proliferación peroxisomal; AMPK: proteína cinasa dependiente de AMP; ACC: acetyl-CoA carboxilasa).

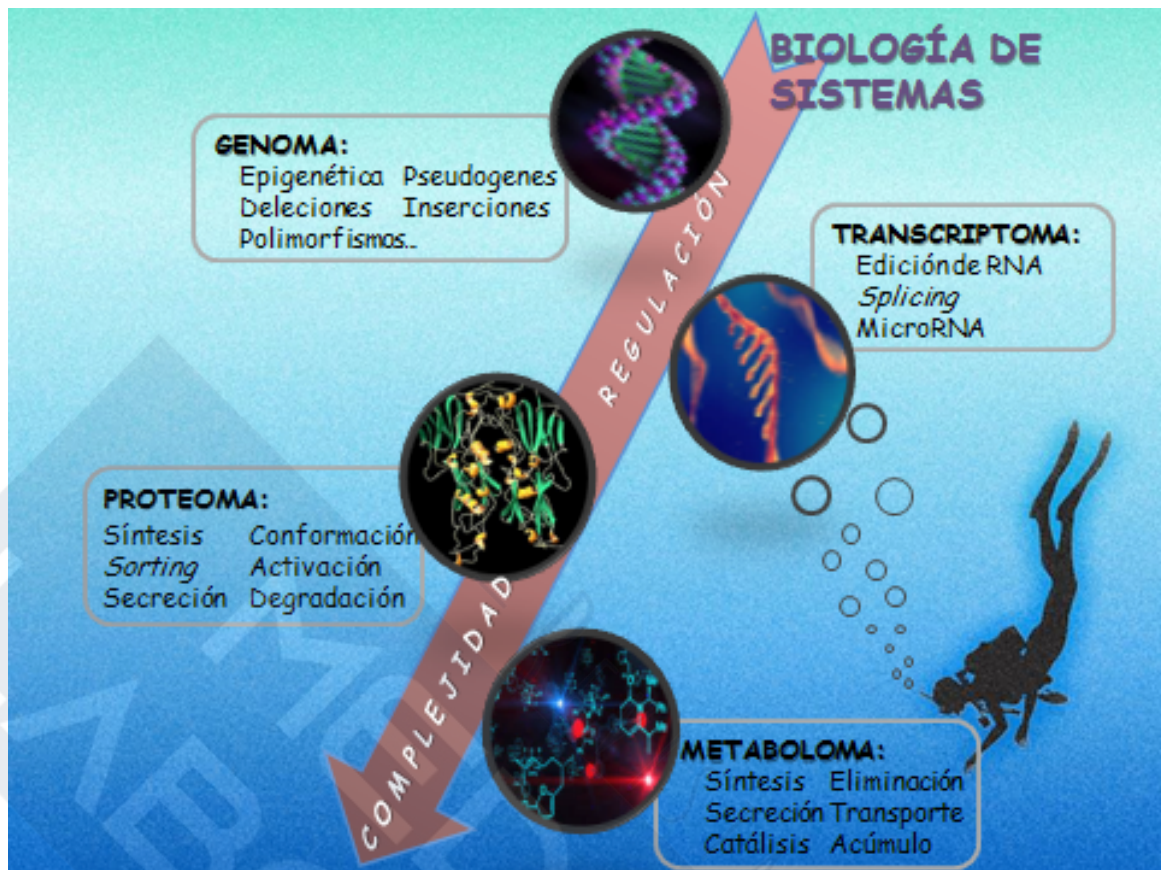


Fig. 3. Biología de sistemas.

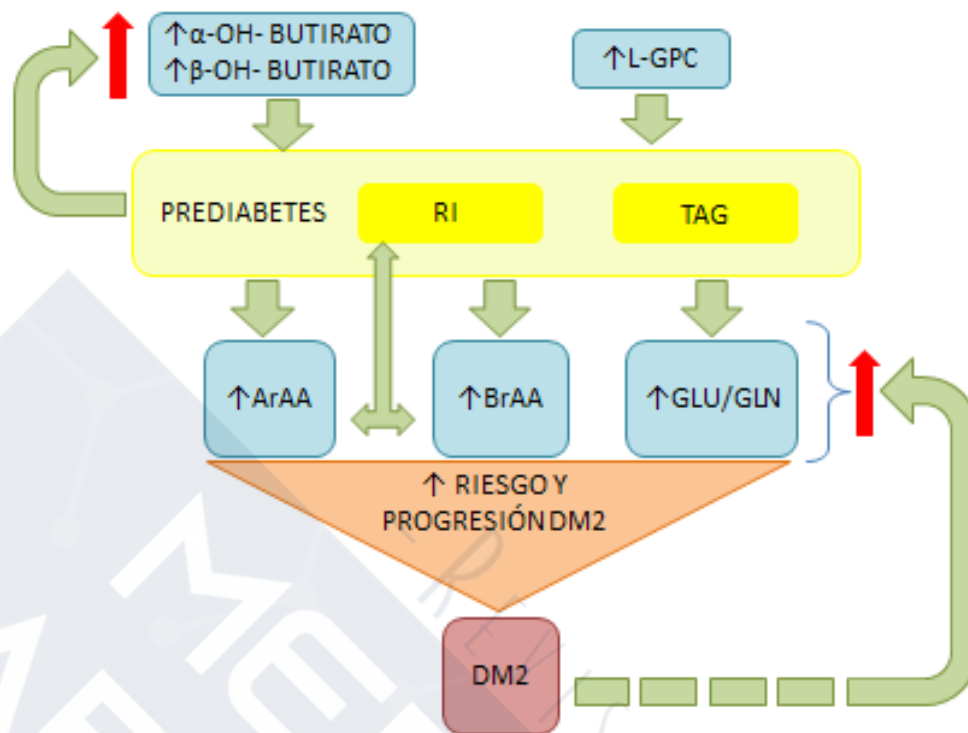


Fig. 4. Metabolitos implicados en el desarrollo, la progresión y el riesgo de la DM2. Los metabolitos α -hidroxibutirato, β -hidroxibutirato y 1-linoleoil-glicerofosfocolina (L-GPC) son predictores de la prediabetes, apareciendo antes de que se dé la resistencia a la insulina (RI) y la tolerancia alterada a la glucosa (TAG) (30,31). El estado de prediabetes ya presenta niveles elevados de aminoácidos de cadena ramificada (BrAA), aminoácidos aromáticos (ArAA) (29,33) y la relación glutamato / glutamina (Glu/Gln) y antes del inicio de la DM2, también aumentan los niveles de BrAA, ArAA y β -hidroxibutirato y la relación Glu/Gln. En la DM2 instaurada, se produce un mayor aumento de los metabolitos descritos (29,33-35).

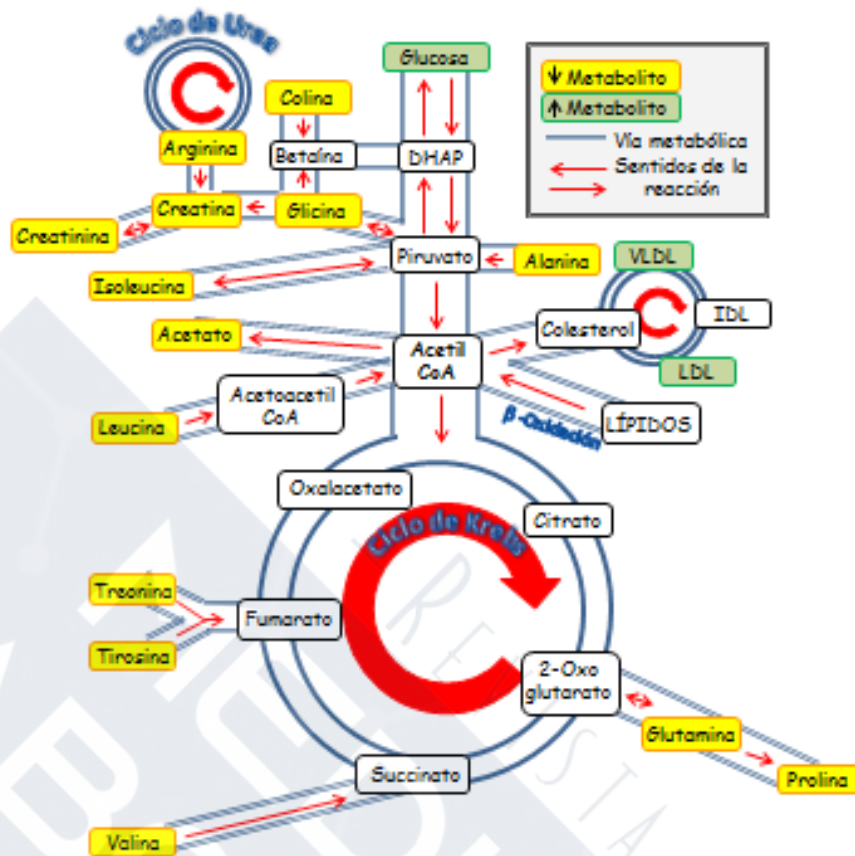


Fig. 5. Rutas metabólicas alteradas y detectadas por el análisis de H-NMR donde se muestra la relación existente entre los metabolitos de las rutas metabólicas identificadas y riesgo de desarrollo de EC en la DM2. Los metabolitos en amarillo corresponden a los que se ven disminuidos mientras que los metabolitos en verde corresponde a los que se ven aumentados. Las flechas en rojo representan la dirección de la reacción (39).