

AVANCES EN DIABETOLOGÍA

www.elsevier.es/avdiabetol



REVISIÓN BREVE

Célula beta, diabetes y la ruta de *hypoxia inducible factor*

David A. Cano^{a,b}

^a Unidad de Endocrinología y Nutrición, Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Hospital Universitario Virgen del Rocío/Consejo Superior de Investigaciones Científicas/Universidad de Sevilla, Sevilla, España

^b Unidad de Endocrinología, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España

Recibido el 28 de noviembre de 2012; aceptado el 25 de enero de 2013

Disponible en Internet el 22 de marzo de 2013

PALABRAS CLAVE

Hipoxia;
Hypoxia inducible factor;
Von Hippel Lindau;
Célula beta;
Metabolismo

Resumen Las células responden a niveles bajos de oxígeno (hipoxia) activando un programa génico específico para potenciar la adaptación al metabolismo anaeróbico y promover la conservación de la energía. Los factores de transcripción HIF (del inglés *hypoxia inducible factor*) juegan un papel central en la respuesta a hipoxia. La actividad de HIF está regulada por el gen supresor de tumores *VHL*, que degrada a HIF en presencia de oxígeno. Recientemente varios estudios han puesto de manifiesto la importancia de la ruta de respuesta a hipoxia HIF en la homeostasis de la glucosa. Cambios en los niveles de actividad de esta ruta en la célula beta endocrina alteran la capacidad de secreción de insulina. Además, la ruta de respuesta a hipoxia HIF parece regular la función metabólica de órganos implicados en la patogénesis de la diabetes y el síndrome metabólico como el hígado, el tejido adiposo y el músculo. Estas observaciones sugieren la posibilidad de que alteraciones en la ruta de hipoxia HIF puedan contribuir al desarrollo de diabetes.

© 2012 Sociedad Española de Diabetes. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Hipoxia;
HIFs;
Von Hippel-Lindau;
Beta cell;
Metabolism

Hypoxia signalling in beta cell function and diabetes

Abstract Under low oxygen pressure (hypoxia), cells activate a specific genetic program, modulating genes involved in anaerobic metabolism and cellular energy metabolism. The transcriptional hypoxia inducible factors (HIFs) are central to this response. HIF activity is regulated by the von Hippel-Lindau tumour suppressor protein (pVHL). In the presence of oxygen, pVHL targets HIF for ubiquitination and subsequent proteasomal degradation. Several recent reports have revealed a critical role of the hypoxia response mediated by HIF on glucose homeostasis. Changes in HIF pathway activity in beta-cells impair insulin secretion. Furthermore, the HIF pathway regulates the metabolic function in organs involved in the pathogenesis of diabetes and metabolic syndrome such as liver, fat and muscle. These observations raise the question of whether changes in HIF levels might contribute to the progression of type 2 diabetes.

© 2012 Sociedad Española de Diabetes. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Correo electrónico: dcano-ibis@us.es

Maquinaria molecular de respuesta a la hipoxia

El mantenimiento de unos niveles adecuados de oxígeno es crítico para la función celular. Las células responden a los niveles bajos de oxígeno o hipoxia activando un programa génico específico que incluye genes para adaptarse al metabolismo anaeróbico, para potenciar el suministro de sangre y promover la conservación de la energía. Los factores de transcripción HIF (del inglés *hypoxia inducible factor*) juegan un papel central en la respuesta a hipoxia, ya que regulan la mayor parte de los genes que responden a hipoxia^{1,2}. HIF es un heterodímero compuesto de 2 subunidades: HIF α y HIF β . Existen 3 subunidades HIF α (HIF1 α , HIF2 α y HIF3 α) que se diferencian en los genes diana que activan y en los tejidos en que se expresan. La actividad de HIF α está regulada por oxígeno, principalmente mediante un complejo mecanismo que regula la estabilidad de la proteína (fig. 1), mientras que HIF β está constitutivamente activa. En presencia de oxígeno, una familia de dioxigeninas denominadas prolilhidroxilasas (PHD) hidroxila unos residuos específicos de prolina de los factores HIF α , una reacción dependiente de oxígeno. Estos motivos hidroxilados son reconocidos por el producto del gen *VHL* (del síndrome Von Hippel Lindau), pVHL. La proteína pVHL forma parte de un complejo E3 ubiquitin-ligasa que marca al factor HIF α para su poliubiquitinación y posterior degradación por el proteosoma³. En condiciones de hipoxia, los residuos de prolina de HIF α no se hidroxilan y por tanto no son reconocidos por pVHL, permitiendo que el factor HIF α no se degrade. La acumulación de HIF α permite formar un complejo con la subunidad HIF1 β para translocarse al núcleo celular y modular la expresión de genes diana, incluyendo genes necesarios

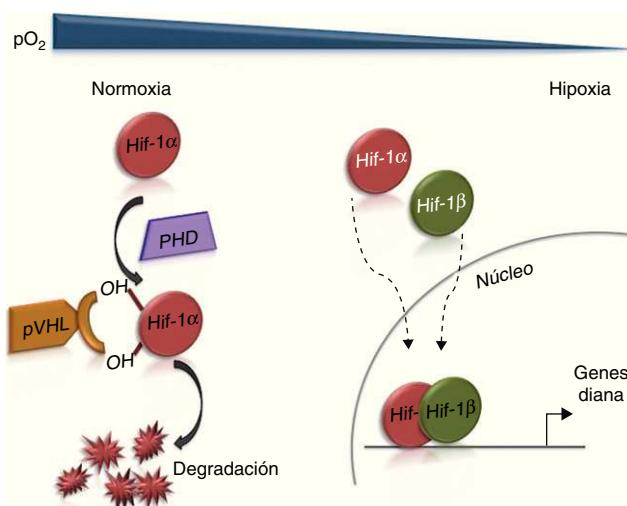


Figura 1 Efecto de la presión parcial de oxígeno (pO₂) sobre la actividad HIF-1 α . En condiciones normales de pO₂, HIF-1 α es ubiquitinada y degradada muy rápidamente. Las enzimas prolilhidroxilasas (PHD) hidroxilan los residuos de prolina de HIF-1 α , lo que permite su reconocimiento por pVHL y su posterior degradación. A niveles bajos de oxígeno, las PHD no catalizan la hidroxilación de los residuos de prolina y, por tanto, HIF-1 α no es degradada. El complejo formado por HIF-1 α y HIF-1 β se transloca al núcleo activando la expresión de genes diana.

para el metabolismo de la glucosa y la captación de oxígeno. En ausencia de actividad pVHL, como ocurre en pacientes con síndrome de Von Hippel Lindau con mutaciones en el gen *VHL*, HIF α se acumula en presencia de niveles normales de oxígeno y se produce la activación aberrante de genes diana de HIF, entre ellos los que inducen la formación de vasos sanguíneos¹. Este mecanismo explica la presencia de tumores muy vascularizados en pacientes con síndrome de Von Hippel Lindau³.

Papel de HIF en la función de las células beta pancreáticas

Recientemente se ha descubierto que la ruta HIF tiene un papel esencial en la función de las células beta pancreáticas. Cuatro estudios independientes han descrito el efecto de la activación de HIF en células beta en ratones⁴⁻⁷. En estos estudios se utilizó el sistema *Cre-loxP* para inactivar condicionalmente el gen *VHL* en células beta, ya que los ratones mutantes para *VHL* son letales en estadios embrionarios. El sistema *Cre-loxP* es una herramienta genética que permite la inactivación o activación del gen de interés en un tejido o tipo celular específico sin afectar su actividad en el resto del organismo⁸. La eliminación de *VHL* específicamente en células beta causa la activación de HIF1 α y esto provoca que los ratones desarrollen intolerancia a la glucosa⁴⁻⁶. El análisis de la función de las células beta en estos ratones reveló que aunque la producción y la secreción basal de insulina no estaban afectadas, las células beta no secretaban insulina en respuesta al aumento de la concentración de glucosa. Esto era debido a defectos en la producción de ATP, a la despolarización de membrana y a la movilización de calcio en respuesta a la glucosa^{5,6}. Estos resultados coinciden con estudios más antiguos realizados en cultivos *in vitro* que mostraban que las células beta perdían su capacidad de secreción de insulina en respuesta a la glucosa en condiciones de hipoxia⁹.

¿Cómo interfiere la activación de la ruta HIF con la secreción de insulina? Las células beta endocrinas detectan concentraciones de glucosa y responden secretando la cantidad de insulina apropiada mediante un mecanismo que requiere el metabolismo de la glucosa. La glucosa es transportada al interior de la célula beta por el transportador de glucosa de baja afinidad de tipo 2 (GLUT-2) y metabolizada originando un aumento de la relación ATP/ADP intracelular. Esto produce el cierre de los canales de potasio sensibles a ATP causando una despolarización de la membrana celular y la apertura de los canales de calcio. El aumento de los niveles de Ca⁺⁺ intracelular es el estímulo directo de la secreción de insulina. Una característica metabólica casi exclusiva de las células beta es la escasa (prácticamente nula) actividad de la lactato deshidrogenasa y los transportadores monocarboxilatos, un mecanismo que favorece la respiración oxidativa de la glucosa y que parece ser crítico para un funcionamiento preciso de la secreción de insulina en respuesta a glucosa¹⁰. En los ratones deficientes en *VHL* las células beta mostraban alteraciones en la expresión de genes relacionados con el transporte de glucosa, la glucólisis y la utilización del piruvato^{4,5}. También se observó la activación de genes relacionados con la producción y secreción del lactato y un aumento en la secreción

de lactato⁴. Estos resultados indicaban que la activación de la ruta HIF causaba un cambio de metabolismo aeróbico a anaerobio a pesar de la presencia de niveles normales de oxígeno, un efecto similar al efecto Warburg observado en tumores¹¹. Este aumento del metabolismo anaerobio bloquea la capacidad de secreción de insulina en respuesta a la glucosa de las células beta, poniendo de manifiesto la estrecha relación entre metabolismo intracelular de la glucosa y regulación de la secreción de insulina¹². Además del metabolismo de la glucosa, la activación de HIF parece afectar muchas otras funciones celulares en las células beta. Un análisis de microarrays en islotes de ratones deficientes en *VHL* realizado en nuestro laboratorio ha mostrado cambios significativos en más de 600 genes (datos sin publicar). Entre ellos y en consonancia con los resultados discutidos anteriormente, se encuentran genes relacionados con el metabolismo de la glucosa. Sin embargo, hemos encontrado también genes relacionados con funciones celulares tan importantes como proliferación, muerte celular y reorganización del citoesqueleto, indicando que la ruta HIF es un regulador general de la función de la célula beta.

Es llamativo que la inactivación de HIF1 α también parece tener un efecto deletéreo sobre la función de las células beta en ratones, disminuyendo la capacidad de secreción de insulina en respuesta a la glucosa¹³. Es decir, tanto el exceso como el defecto de la actividad de HIF1 α interfiere con la función de la célula beta endocrina, lo que indica que la ruta HIF debe mantenerse en un intervalo muy estrecho de actividad para un funcionamiento correcto de la célula beta.

Relación entre la actividad de HIF y la disfunción de la célula beta en diabetes

Todos estos estudios realizados en modelos animales ponen de manifiesto la importancia de la ruta HIF en la función de la célula beta y plantean la posibilidad de que cambios en los niveles de HIF puedan influir en el deterioro de la función (disfunción) de la célula beta durante el desarrollo de la diabetes tipo 2. Las células beta son muy sensibles a la hipoxia y, de hecho, los islotes pancreáticos se encuentran muy vascularizados. En algunos modelos animales de diabetes tipo 2, como las ratas Zucker y las ratas Goto-Kakizaki, hay un aumento de la expresión de genes diana de HIF y de metabolismo glucolítico en los islotes pancreáticos^{14,15}. Se ha propuesto como hipótesis que el aumento del tamaño de los islotes que ocurre es compensación al aumento de la resistencia a la insulina puede ocasionar una vascularización deficiente y el consiguiente estrés hipóxico, de forma similar a lo que se ha descrito en grasa de ratones obesos (véase más adelante). Por otra parte, es bien conocido que las células beta tienen un consumo muy elevado de oxígeno a concentraciones altas de glucosa, lo que potencialmente puede causar una disminución transitoria de los niveles de oxígeno intracelulares. De hecho, se ha observado la acumulación de HIF y la activación de un número significativo de genes diana de HIF en células beta (de ratas y humanas) en la hiperglucemia^{16,17}.

La ruta HIF puede activarse por otros estímulos además de la hipoxia. Algunas de estos estímulos son condiciones fisiopatológicas asociadas a la diabetes tipo 2 y que podrían,

por tanto, causar la activación de HIF en las células beta. Los niveles de ROS (del inglés *reactive oxygen species*) parecen regular los niveles de HIF, probablemente por inhibición de las prolilhidroxilasas que actúan sobre HIF¹⁸. La hiperglucemia crónica observada en pacientes diabéticos provoca un aumento de la producción de ROS¹⁹ y sería interesante determinar si HIF se encuentra activado en las células beta de estos pacientes. El óxido nítrico es otro factor descrito como activador de HIF independiente de la presencia de oxígeno, también actuando sobre las prolilhidroxilasas²⁰, y se ha descrito que en islotes de diabéticos tipo 2 existe un aumento de la producción de óxido nítrico²¹. En los últimos años ha habido un gran número de estudios, tanto en líneas celulares como *in vivo*, que han demostrado que las citoquinas activan la ruta HIF²². De hecho, un estudio muy reciente sugiere que HIF puede mediar la disfunción de células beta inducida por citoquinas²³. En este estudio se analizó por microarrays la respuesta a citoquinas proinflamatorias en células beta de rata en cultivo y se encontró un gran número de genes diana de HIF inducidos. Esto parecía deberse a un efecto directo de HIF, ya que la actividad HIF también se incrementaba en respuesta a las citoquinas. En conjunto, todas estas observaciones sugieren que la activación de la ruta HIF podría contribuir al deterioro de la función de la célula beta durante el desarrollo de la diabetes tipo 2.

La asociación entre la ruta de hipoxia y el desarrollo de la resistencia a la insulina

La ruta de hipoxia HIF parece tener un papel fisiológico importante en órganos relevantes en el desarrollo de la resistencia a la insulina como el hígado, el tejido adiposo y el músculo (tabla 1). La activación de la ruta HIF en músculo esquelético en ratones disminuye el consumo de oxígeno de estas células produciendo un cambio en el metabolismo celular similar al descrito anteriormente en células beta con activación de HIF, pasando de un metabolismo oxidativo a un metabolismo de la glucosa eminentemente anaeróbico²⁴. En este estudio no se examinó la tolerancia a glucosa o la sensibilidad a la insulina de estos ratones, por lo que queda por determinar si la activación de la ruta HIF en el músculo puede tener efecto sobre la homeostasis de la glucosa. Sin embargo, es llamativo que en personas con resistencia a la insulina el músculo esquelético presenta unas características similares, actividad glucolítica elevada pero baja actividad oxidativa²⁵, y sería interesante definir si este efecto está mediado por HIF. Varios estudios han descrito un aumento de la hipoxia y la acumulación de HIF en el hígado graso de ratones alimentados con una dieta rica en grasa^{26,27}. Estos resultados coinciden con estudios en los que la sobreactivación de la ruta HIF (mediante inactivación genética de *VHL*) en hepatocitos de ratones provoca una esteatosis hepática muy severa asociada con defectos en la beta oxidación de ácidos grasos²⁸. La disminución de los niveles de HIF en el hígado de ratones alimentados con dieta rica en grasa mejora la esteatosis hepática y la resistencia a la insulina sugiriendo una posible línea de intervención terapéutica. Sin embargo, la disminución de los niveles de HIF tendría que ser moderada, puesto que la inactivación genética de la ruta HIF en el hígado en ratones causa distilidemia y un aumento de la gluconeogénesis hepática y de

Tabla 1 Efectos de la manipulación de la ruta de hipoxia HIF en diferentes tejidos

Tejido/órgano	Activación/Inactivación	Método	Efectos	Referencias
<i>Células beta</i>	Inactivación	Genético	<ul style="list-style-type: none"> • Disminución de la secreción de insulina • Intolerancia a la glucosa 	13
	Activación	Genético	<ul style="list-style-type: none"> • Disminución de la secreción de insulina • Intolerancia a la glucosa • Aumento del metabolismo glucolítico 	4-6
	Activación	Hipoxia	<ul style="list-style-type: none"> • Disminución de la secreción de insulina 	9
<i>Músculo</i>	Activación	Genético	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento del metabolismo glucolítico 	24
<i>Hígado</i>	Inactivación	Genético	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento de la producción de glucosa en el hígado • Disminuye la tolerancia a la glucosa 	29
	Activación	Genético	<ul style="list-style-type: none"> • Esteatosis hepática 	28
<i>Grasa</i>	Activación	Hipoxia	<ul style="list-style-type: none"> • Inducción de respuesta proinflamatoria en adipocitos • Disminución de adiponectinas antiinflamatorias • Disminución del transporte de glucosa inducido por la insulina 	34,35,38,40,41
	Activación	Genético	<ul style="list-style-type: none"> • Obesidad • Resistencia a la insulina • Intolerancia a la glucosa 	42
	Inactivación	Genético	<ul style="list-style-type: none"> • Resistencia a la obesidad inducida por la dieta 	43

los niveles de insulina²⁹. Por tanto, en el hígado, y de forma similar a lo que ocurre en células beta endocrinas, tanto la activación como la inactivación de HIF tienen un efecto perjudicial sobre la función metabólica.

Sin ninguna duda, el área donde más se ha estudiado la posible relación entre la ruta de hipoxia y los defectos en el metabolismo celular es el tejido adiposo. El consenso generalizado en esta área de investigación es que el tejido adiposo de personas obesas muestra una hipoxia moderada^{30,31}. Sin embargo, 2 estudios muy recientes han obtenido resultados completamente opuestos^{32,33}. El estudio de Hodson et al.³² es especialmente llamativo, ya que ha mostrado que aunque el tejido adiposo de personas obesas presenta niveles de oxígeno reducidos, no muestra características metabólicas de encontrarse en un estado de hipoxia porque el consumo de oxígeno en este tejido también es bajo. Una posible causa para esta discrepancia es la distinta metodología utilizada, así como el grupo de pacientes evaluados en los distintos estudios, y serán necesarios nuevos estudios para esclarecer este punto. Los estudios realizados en modelos animales de obesidad (tanto genéticos como inducidos por dieta) no dejan lugar a dudas y han demostrado de forma fehaciente que el tejido adiposo en la obesidad se encuentra en condiciones de hipoxia^{34,35}. El mecanismo subyacente que se postula es la falta de la angiogénesis necesaria durante un aumento de peso tan súbito en estos modelos.

La obesidad se caracteriza por un estado crónico de inflamación sistémica de bajo grado. El tejido adiposo tiene un papel determinante en este estado de inflamación

produciendo citoquinas proinflamatorias que promueven el desarrollo de resistencia a la insulina^{36,37}. Los estudios realizados tanto en modelos animales como en adipocitos (tanto de ratones como de humanos) en cultivo han demostrado que los niveles bajos de oxígeno en adipocitos inducen una respuesta proinflamatoria (con aumento de adiponectinas proinflamatorias como IL-6 y el factor de inhibición de la migración de los macrófagos) y una disminución de adiponectinas antiinflamatorias como la adiponectina^{34,35,38}. La hipoxia también parece inducir una respuesta inflamatoria en otros tipos celulares presentes en el tejido adiposo. Se ha descrito que, en condiciones de hipoxia, la producción de citoquinas aumenta en la fracción vascular estromal de tejido adiposo humano³⁹. El proceso inflamatorio puede ser sin duda uno de los mecanismos por los que la hipoxia puede contribuir al desarrollo de la resistencia a la insulina en el tejido adiposo durante la obesidad, pero la hipoxia también puede afectar directamente a la señalización de insulina en los adipocitos. Varios estudios han revelado que la hipoxia disminuye el transporte de glucosa inducido por insulina en adipocitos humanos y de ratones^{40,41}. Este efecto parece estar causado por un descenso en la fosforilación del receptor de insulina⁴¹. Los estudios realizados en ratones en los que se ha activado la ruta HIF específicamente en el tejido adiposo (mediante inactivación genética de *VHL*) confirman que la sobreactivación de la ruta HIF puede causar la disfunción del adipocito. Los ratones deficientes en *VHL* en el tejido adiposo desarrollan obesidad moderada, resistencia a la insulina e intolerancia a glucosa⁴². En contraposición, los ratones con inactivación de *HIF1α* en el tejido adiposo

son resistentes a la obesidad inducida por la dieta⁴³. Estos hallazgos plantean la posibilidad de utilizar inhibidores farmacológicos de la ruta HIF en el tratamiento de la disfunción metabólica asociada a la obesidad.

La posible relación causal entre la ruta de hipoxia y la resistencia a la insulina puede tener relevancia clínica en el contexto del síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS). El SAOS parece asociarse con resistencia a la insulina (e intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2) independientemente de la obesidad⁴⁴. Uno de los mecanismos propuestos para explicar esta asociación es la hipoxia intermitente causada por la apnea, y de hecho, estudios experimentales en humanos han demostrado que la hipoxia intermitente disminuye la sensibilidad a la insulina⁴⁵. Si esta hipótesis fuera cierta sería de esperar que la oxigenación hiperbárica o la presión positiva continua en la vía respiratoria (CPAP) que se emplea para el tratamiento del SAOS disminuyeran la resistencia a la insulina en estos pacientes. Sin embargo, los ensayos clínicos realizados hasta el momento no parecen demostrar un efecto del tratamiento con CPAP sobre el metabolismo de la glucosa⁴⁶⁻⁴⁸, aunque algunos autores sugieren que son necesarios ensayos mejor aleatorizados y con un mayor número de pacientes para obtener conclusiones más definitivas⁴⁹.

Los fenotipos observados en ratones en los que se ha inactivado el gen *VHL* nos llevan a plantear si algunos de los efectos asociados a la activación de la ruta HIF se observan también en pacientes con síndrome de Von Hippel Lindau. Ninguno de los escasos estudios realizados hasta la fecha ha descrito una asociación entre Von Hippel Lindau y diabetes o síndrome metabólico. Sin embargo, hay que tener en cuenta que estos pacientes portan mutaciones en el gen *VHL* en heterocigosis³ (los tumores en estos pacientes se desarrollan cuando ocurre otra mutación que afecta al otro alelo de *VHL*). En ratones, la eliminación de un único alelo de *VHL* no parece causar fenotipo alguno, lo que indica que una heterocigosis de *VHL* no es suficiente para inducir una respuesta constitutiva de la ruta de hipoxia HIF.

Conclusiones

Los estudios experimentales realizados en los últimos años han puesto de manifiesto la importancia de la ruta de respuesta a hipoxia HIF en la regulación metabólica de diversos órganos implicados en la homeostasis de la glucosa. La ruta HIF parece tener un papel especialmente relevante en la función de la célula beta. La activación de la ruta HIF en células beta bloquea la secreción de insulina mediante un mecanismo que afecta al metabolismo intracelular de la glucosa, pasando de un metabolismo oxidativo a un metabolismo eminentemente glucolítico. Estos estudios ilustran la estrecha relación entre metabolismo celular y secreción de insulina y confirman que la célula beta es particularmente sensible a la activación del metabolismo glucolítico⁵⁰.

La ruta de la hipoxia HIF también afecta al metabolismo celular de órganos relevantes en el desarrollo de la resistencia a la insulina como el hígado, el tejido adiposo y el músculo, por lo que cambios en la actividad de esta ruta podrían ser un factor patogénico importante en la diabetes tipo 2. No obstante, se necesitan más estudios experimentales, farmacológicos y clínicos que nos ayuden a establecer

de forma más precisa la relación entre la ruta de respuesta a la hipoxia HIF y la diabetes e identificar los posibles mecanismos biológicos subyacentes. Estos estudios nos permitirán determinar si la manipulación de la ruta de la hipoxia HIF puede ser una nueva diana terapéutica en el tratamiento de la diabetes tipo 2 y el síndrome metabólico.

Finaciación

Este trabajo está financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España y la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés

Bibliografía

1. Brahim-Horn MC, Chiche J, Pouyssegur J. Hypoxia signalling controls metabolic demand. *Curr Opin Cell Biol.* 2007;19:223-9.
2. Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1: oxygen homeostasis and disease pathophysiology. *Trends Mol Med.* 2001;7:345-50.
3. Lonser RR, Glenn GM, Walther M, Chew EY, Libutti SK, Linehan WM, et al. von Hippel-Lindau disease. *Lancet.* 2003;361:2059-67.
4. Puri S, Cano DA, Hebrok M. A role for von Hippel-Lindau protein in pancreatic beta-cell function. *Diabetes.* 2009;58:433-41.
5. Cantley J, Selman C, Shukla D, Abramov AY, Forstreuter F, Esteban MA, et al. Deletion of the von Hippel-Lindau gene in pancreatic beta cells impairs glucose homeostasis in mice. *J Clin Invest.* 2009;119:125-35.
6. Zehetner J, Danzer C, Collins S, Eckhardt K, Gerber PA, Ballschmieter P, et al. PvhL is a regulator of glucose metabolism and insulin secretion in pancreatic beta cells. *Genes Dev.* 2008;22:3135-46.
7. Choi D, Cai EP, Schroer SA, Wang L, Woo M. Vhl is required for normal pancreatic beta cell function and the maintenance of beta cell mass with age in mice. *Lab Invest.* 2011;91:527-38.
8. Cre-Lox recombination. [consultado 26 Nov 2012]. Disponible en: http://en.wikipedia.org/wiki/Cre-Lox_recombination
9. Dionne KE, Colton CK, Yarmush ML. Effect of hypoxia on insulin secretion by isolated rat and canine islets of Langerhans. *Diabetes.* 1993;42:12-21.
10. Sekine N, Cirulli V, Regazzi R, Brown LJ, Gine E, Tamarit-Rodríguez J, et al. Low lactate dehydrogenase and high mitochondrial glycerol phosphate dehydrogenase in pancreatic beta-cells. Potential role in nutrient sensing. *J Biol Chem.* 1994;269:4895-902.
11. Bensinger SJ, Christofk HR. New aspects of the Warburg effect in cancer cell biology. *Semin Cell Dev Biol.* 2012;23:352-61.
12. Cantley J, Grey ST, Maxwell PH, Withers DJ. The hypoxia response pathway and beta-cell function. *Diabetes Obes Metab.* 2010;12 Suppl 2:159-67.
13. Cheng K, Ho K, Stokes R, Scott C, Lau SM, Hawthorne WJ, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha regulates beta cell function in mouse and human islets. *J Clin Invest.* 2010;120:2171-83.
14. Li X, Zhang L, Meshinchi S, Dias-Leme C, Raffin D, Johnson JD, et al. Islet microvasculature in islet hyperplasia and failure in a model of type 2 diabetes. *Diabetes.* 2006;55:2965-73.
15. Lacraz G, Giroix MH, Kassis N, Coulaud J, Galinier A, Noll C, et al. Islet endothelial activation and oxidative stress gene expression is reduced by IL-1Ra treatment in the type 2 diabetic GK rat. *PLoS One.* 2009;4:e6963.

16. Wang W, Upshaw L, Strong DM, Robertson RP, Reems J. Increased oxygen consumption rates in response to high glucose detected by a novel oxygen biosensor system in non-human primate and human islets. *J Endocrinol*. 2005;185:445–55.
17. Bensellam M, Duvillie B, Rybachuk G, Laybutt DR, Magnan C, Guiot Y, et al. Glucose-induced O₂ consumption activates hypoxia inducible factors 1 and 2 in rat insulin-secreting pancreatic beta-cells. *PloS one*. 2012;7:e29807.
18. Kaelin Jr WG. ROS: really involved in oxygen sensing. *Cell Metab*. 2005;1:357–8.
19. Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Poitout V. Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2004;53 Suppl 1:S119–24.
20. Park SK, Haase VH, Johnson RS. Von Hippel Lindau tumor suppressor regulates hepatic glucose metabolism by controlling expression of glucose transporter 2 and glucose 6-phosphatase. *Int J Oncol*. 2007;30:341–8.
21. Muhammed SJ, Lundquist I, Salehi A. Pancreatic beta-cell dysfunction, expression of iNOS and the effect of phosphodiesterase inhibitors in human pancreatic islets of type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2012;14:1010–9.
22. Haddad JJ, Harb HL. Cytokines and the regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha. *Int Immunopharmacol*. 2005;5:461–83.
23. Ortis F, Naamane N, Flamez D, Ladrière L, Moore F, Cunha DA, et al. Cytokines interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha regulate different transcriptional and alternative splicing networks in primary beta-cells. *Diabetes*. 2010;59:358–74.
24. Aragones J, Schneider M, van Geyte K, Fraisl P, Dresselaers T, Mazzone M, et al. Deficiency or inhibition of oxygen sensor Phd1 induces hypoxia tolerance by reprogramming basal metabolism. *Nat Genet*. 2008;40:170–80.
25. He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and oxidative enzyme activity in relation to muscle fiber type in type 2 diabetes and obesity. *Diabetes*. 2001;50:817–23.
26. Ochiai D, Goda N, Hishiki T, Kanai M, Senoo-Matsuda N, Soga T, et al. Disruption of HIF-1alpha in hepatocytes impairs glucose metabolism in diet-induced obesity mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;415:445–9.
27. Reinke C, Bevans-Fonti S, Drager LF, Shin MK, Polotsky VY. Effects of different acute hypoxic regimens on tissue oxygen profiles and metabolic outcomes. *J Appl Physiol*. 2011;111:881–90.
28. Kucejova B, Sunny NE, Nguyen AD, Hallac R, Fu X, Pena-Llopis S, et al. Uncoupling hypoxia signaling from oxygen sensing in the liver results in hypoketotic hypoglycemic death. *Oncogene*. 2011;30:2147–60.
29. Wang XL, Suzuki R, Lee K, Tran T, Gunton JE, Saha AK, et al. Ablation of ARNT/HIF1beta in liver alters gluconeogenesis, lipogenic gene expression, and serum ketones. *Cell Metabolism*. 2009;9:428–39.
30. Trayhurn P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. *Physiol Rev*. 2013;93:1–21.
31. Pasarica M, Sereda OR, Redman LM, Albarado DC, Hymel DT, Roan LE, et al. Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity: evidence for rarefaction, macrophage chemotaxis, and inflammation without an angiogenic response. *Diabetes*. 2009;58:718–25.
32. Hodson L, Humphreys SM, Karpe F, Frayn KN. Metabolic signatures of human adipose tissue hypoxia in obesity. *Diabetes*. 2012 [Epub ahead of print].
33. Goossens GH, Bizzarri A, Ventecler N, Essers Y, Cleutjens JP, Konings E, et al. Increased adipose tissue oxygen tension in obese compared with lean men is accompanied by insulin resistance, impaired adipose tissue capillarization, and inflammation. *Circulation*. 2011;124:67–76.
34. Ye J, Gao Z, Yin J, He Q. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293:E1118–28.
35. Hosogai N, Fukuhara A, Oshima K, Miyata Y, Tanaka S, Segawa K, et al. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes*. 2007;56:901–11.
36. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol*. 2004;25:4–7.
37. Sun S, Ji Y, Kersten S, Qi L. Mechanisms of inflammatory responses in obese adipose tissue. *Annu Rev Nutr*. 2012;32: 261–86.
38. Wang B, Wood IS, Trayhurn P. Dysregulation of the expression and secretion of inflammation-related adipokines by hypoxia in human adipocytes. *Pflugers Arch*. 2007;455:479–92.
39. O'Rourke RW, White AE, Metcalf MD, Olivas AS, Mitra P, Larison WG, et al. Hypoxia-induced inflammatory cytokine secretion in human adipose tissue stromovascular cells. *Diabetologia*. 2011;54:1480–90.
40. Yin J, Gao Z, He Q, Zhou D, Guo Z, Ye J. Role of hypoxia in obesity-induced disorders of glucose and lipid metabolism in adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;296:E333–42.
41. Regazzetti C, Peraldi P, Gremeaux T, Najem-Lendom R, Ben-Sahra I, Cormont M, et al. Hypoxia decreases insulin signaling pathways in adipocytes. *Diabetes*. 2009;58:95–103.
42. Halberg N, Khan T, Trujillo ME, Wernstedt-Asterholm I, Attie AD, Sherwani S, et al. Hypoxia-inducible factor 1 alpha induces fibrosis and insulin resistance in white adipose tissue. *Mol Cell Biol*. 2009;29:4467–83.
43. Jiang C, Qu A, Matsubara T, Chanturiya T, Jou W, Gavrilova O, et al. Disruption of hypoxia-inducible factor 1 in adipocytes improves insulin sensitivity and decreases adiposity in high-fat diet-fed mice. *Diabetes*. 2011;60:2484–95.
44. Pamidi S, Aronsohn RS, Tasali E. Obstructive sleep apnea: role in the risk and severity of diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010;24:703–15.
45. Punjabi NM, Beamer BA. Alterations in glucose disposal in sleep-disordered breathing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179:235–40.
46. Sharma SK, Agrawal S, Damodaran D, Sreenivas V, Kadhiravan T, Lakshmy R, et al. CPAP for the metabolic syndrome in patients with obstructive sleep apnea. *N Engl J Med*. 2011;365:2277–86.
47. Babu AR, Herdegen J, Fogelfeld L, Shott S, Mazzone T. Type 2 diabetes, glycemic control, and continuous positive airway pressure in obstructive sleep apnea. *Arch Intern Med*. 2005;165:447–52.
48. West SD, Nicoll DJ, Wallace TM, Matthews DR, Stradling JR. Effect of CPAP on insulin resistance and HbA1c in men with obstructive sleep apnoea and type 2 diabetes. *Thorax*. 2007;62:969–74.
49. Pamidi S, Wroblewski K, Broussard J, Day A, Hanlon EC, Abraham V, et al. Obstructive sleep apnea in young lean men: impact on insulin sensitivity and secretion. *Diabetes Care*. 2012;35:2384–9.
50. Quintens R, Hendrickx N, Lemaire K, Schuit F. Why expression of some genes is disallowed in beta-cells. *Biochem Soc Trans*. 2008;36:300–5.