

Aspectos actuales de la obesidad

E. Borrajo

Catedrático de Pediatría. Jefe del Servicio de Pediatría. Hospital Virgen de la Arrixaca. El Palmar. Murcia.

(*An Esp Pediatr* 2002; 56 [Supl 4]: 1-11)

INTRODUCCIÓN

De manera simplista puede definirse la obesidad como un incremento significativo del peso ideal, entendiendo como tal el que maximiza la expectativa de vida (Metropolitan Life Insurance)¹. Las modificaciones del peso significan, en última instancia, modificaciones del depósito graso, que fisiológicamente representa el 15-25% del peso corporal.

Aunque el papel de la herencia, en la génesis de la obesidad había sido enfatizado por muchos autores, es a partir de los trabajos sucesivos de grupos investigadores daneses, estudiando gemelos univitelinos viviendo en ambientes separados², o gemelos idénticos sobrealimentados experimentalmente³, los que han comprobado su importancia. La herencia determinaría el *set point* individual del contenido graso, el cual supondría del 65 al 75% de la tendencia heredada hacia la obesidad. Todo ello tendería a mantener la estabilidad en el peso de cada individuo, evitando fluctuaciones y explicaría los dudosos resultados del tratamiento dietético. De ahí el cínico comentario de Stunkard, "la mayor parte de las personas obesas no se tratan su obesidad. De aquellos que se tratan, la mayor parte no perderá peso, y de los que pierden peso la mayor parte volverá a recuperarlo"⁴. Un estudio retrospectivo de las publicaciones en los últimos 70 años, llega a la conclusión de que a los 5 años el 90-95% de los individuos ha recuperado el peso inicial⁵.

Sin embargo, mientras el déficit de un solo elemento en el circuito catabólico conduce a una acusada obesidad, en el circuito anabólico existen varios sistemas redundantes, lo cual supone mecanismos defensivos ancestrales para luchar contra la escasez de alimentos, cuya expresión práctica es el denominado "genotipo ahorrador" de energía. Pero si esta herencia tiene un papel decisivo, son los factores ambientales los que la actualizan. El ejemplo más notable, es lo ocurrido con los indios Pima, debido a cambios bruscos, alimentarios y culturales –el estilo de vida–, la prevalencia de la obesidad se ha incrementado de forma "epidémica". Incluso las preferencias alimentarias, tendrían una cierta base genética⁶. Finalmente, el estilo de vida de los padres también determina el mayor o menor ejercicio de los hijos, de forma que la inactividad de uno de ellos es un fuerte predictor del sedentarismo de los hijos⁷.

Con fines puramente expositivos, pues los diferentes mecanismos patogénicos se interrelacionan y superponen, su estudio se divide en tres apartados:

1. *Mecanismos homeostáticos que tienden a mantener las reservas energéticas estables: a)* a largo plazo (peso estable), señales biológicas de adiposidad, y que relacionan el adipocito con los núcleos hipotalámicos, y *b)* a corto plazo (regulación del principio y fin de una ingesta individual), señales procedentes de estímulos mecánicos y químicos del aparato digestivo, actuando, básicamente sobre el núcleo del tracto solitario.

2. *Mecanismos que regulan el paso de energía química a física, metabolismo energético.* La fosforilización oxidativa, y recarga del ATP.

3. Finalmente, *mecanismos celulares que regulan la propia creación de los depósitos grasos.* La adipocitogénesis, control del número y tamaño de los adipocitos, y la lipogénesis/lipólisis, recambio de sus depósitos de triacilglicerol.

El conocimiento de las moléculas implicadas en todos estos circuitos de regulación se incrementa constantemente, de forma que en la base de datos de Medline se recogen, desde el pasado año 4.181 artículos relacionados con la patogenia de la obesidad.

MECANISMOS HOMEOSTÁTICOS QUE TIENDEN A MANTENER LAS RESERVAS ENERGÉTICAS ESTABLES. SEÑALES DE ADIPOSIDAD

Estas señales parten del propio tejido adiposo. El modelo de regulación energética ya fue propuesto por Kennedy en 1953⁸, con su teoría "lipostática". La masa grasa regularía, mediante señales aferentes al hipotálamo, la cuantía de este depósito para mantenerlo estable (adipostato) a través de vías eferentes. Añadiendo los nombres de los distintos componentes, ahora conocidos, a este esquema, resulta plenamente actual: señales aferentes, leptina e insulina, centro controlador el hipotálamo (núcleos *arcuatus* y *paraventricular*, y áreas lateral y *perifornical*), y señales eferentes, anabólicas (*neuropéptido Y*, *NPY*, y *Agouty related-protein*, *AGRP*), y catabólicas (*proopiomelanocortina*,

POMC, y el *Cocain and Amphetamine Related Transcript*, CART).

Señales aferentes de "adiposidad": insulina y leptina

La insulina, fue la primera señal implicada en la regulación del peso. Cuando se describió la leptina o proteína ob ("leptos" = delgado), fue reconocida como candidato a la segunda señal de adiposidad, aunque por su importancia es actualmente la primera. Su carencia en el ratón leptin-deficiente (*ob/ob*) conduce a hiperfagia, obesidad, diabetes e infertilidad. Ambas hormonas circulan en plasma en cantidades proporcionales a la masa grasa (correlación de 0,9 para la leptina), y tienen receptores en SNC, sintetizados por neuronas que regulan el balance energético.

La leptina se sintetiza por el gen *ob* o gen *lep* que se expresa fundamentalmente en grasa blanca. Actúa como una señal "adipostática" negativa, es decir, frena el apetito. La hiperfagia diabética puede ser debida al déficit de insulina, leptina o ambos, pero en el ratón con diabetes incontrolada la perfusión de leptina frena la hiperfagia, lo que parece demostrar que para la regulación del apetito la leptina es más crucial.

En el año 1997 Montagne et al⁹, describieron un déficit congénito de leptina en dos niños consanguíneos, y Farooqi et al¹⁰, comprobaron la buena respuesta al tratamiento con leptina. También se ha mostrado efectiva en individuos delgados u obesos, con fenotipo de leptina normal, y con pérdida de peso dosis-dependiente¹¹. En la especie humana es una forma de obesidad monogénica muy poco frecuente, habiéndose descrito pocos casos más¹².

La leptina ejerce su acción, fundamentalmente, a nivel central, como se demuestra por el hecho de que el tratamiento a dosis bajas, con leptina pegilada (PEG-OB), modifica selectivamente el apetito sin producir cambios en el gasto energético¹³. No obstante, el fenómeno habitual en la obesidad humana y murina no es el déficit, sino la hiperleptinemia, lo que parece traducir leptin-resistencia. Se ha demostrado que el IMC y el sexo predicen el 63 % de la varianza de leptina plasmática. Los individuos extremadamente obesos tienen una fuerte asociación con la leptin-resistencia, rasgo que es heredable¹⁴.

Centros hipotalámicos reguladores

Las señales periféricas de saciedad, deben llegar a las neuronas hipotalámicas para ejercer su acción.

Barrera hematoencefálica

Existen modelos animales con alteraciones en el transporte de la leptina (ratón NZO o ratón obeso de Nueva Zelanda). En la especie humana esta posibilidad viene sugerida por el hecho de que sus niveles en LCR, en el obeso, son inferiores a los plasmáticos. La inyección intracerebral en rata obesa y diabética de un adenovirus vector del gen *ob*, baja drásticamente los niveles de leptina plasmáti-

ca, lo que apoya la idea de una dificultad para el paso de la leptina al cerebro¹⁵.

Receptor de la leptina

El gen *db* sintetiza dos tipos de receptores el OB-Rb isoforma larga, variante activa que se expresa ampliamente en el hipotálamo, y una subforma corta el OB-Ra, que se expresa en plexos coroideos, y que pudiera intervenir en el transporte de la leptina al fluido intersticial. El ratón *db/db*, y la rata *fa/fa* (rata Zucker) con una alteración en el gen *db* son hiperleptinémicos por leptin-resistencia y fenotípicamente similares a los leptin-deficientes. Clement et al describieron en 1998 una familia de obesos por anomalías en este receptor¹⁶, pero, realmente, las obesidades humanas por anomalía monogénica (salvo, quizá, las mutaciones del MC-4 R, relativamente frecuentes), son excepcionales.

Neuropéptidos efectores de las señales de adiposidad

La leptina interactúa con vías neuronales hipotalámicas que tienen efectos antagónicos sobre la homeostasis energética: La "vía anabólica", promueve el ingreso alimentario y disminuye el gasto energético, mientras que la activación de la "vía catabólica" produce exactamente los efectos opuestos. El resultado neto de la acción mantenida de la leptina sobre el cerebro es la anorexia y la pérdida de peso, solamente en situaciones de ayuno o pérdida de peso ocurre lo contrario. En el hipotálamo, existen una variedad de neuronas que expresan neuropéptidos que afectan a la regulación de la ingesta alimentaria y el gasto energético.

Neuronas de primer orden, leptin-sensibles.

Núcleo arcuatus

El punto donde se inicia la transducción de la señal de leptina y que posee, al menos, dos clases de poblaciones neuronales: *a*) una co-expresa el *NPY* y el *AGRP*, potentes orexiantes, inhibidos por la leptina, *b*) y otra, adyacente, que co-expresan *POMC*, [prohormona del "α-melanocyte-stimulating-hormone" (α-MSH)] y *CART*, anorexiantes, estimuladas por la leptina. Este mecanismo regulador actúa sobre la ingesta alimentaria y el gasto energético, en orden a mantener la masa adiposa estable.

Vía anabólica, orexígena. El neuropéptido Y, promueve hiperfagia y disminuye el gasto energético. La leptina y la insulina inhiben la expresión del neuropéptido Y, con lo cual cesa su acción, disminuyendo el apetito y aumentando el gasto energético. Aunque se han descrito diferentes receptores del *NPY* su efecto se debe, principalmente al estímulo de receptores Y-1. Inyectado, antagonista selectivo del receptor Y-1, el *J-115814*, se suprime apetito, solamente, en ratones con este receptor normal (Y1-[+/+]), y en los Y-5(-/-), mientras no lo hace en los Y-1(-/-)¹⁷.

La proteína *AGRP* (*Agouti Related Peptide*). Hay diferentes mutaciones dominantes en ratones que producen la so-

brexpresión ectópica de la proteína Agouti (AGP), y, como antagonista endógeno de los receptores de melanocortinas, compite con de α -MSH (melanocyte-stimulating-hormone), lo que produce un fenotipo con pelo amarillo, obesidad y diabetes de comienzo adulto, aumento del crecimiento lineal e incremento de la susceptibilidad a tumores. La despigmentación se produce al ligarse a los receptores MC1 cutáneos, y la obesidad por competir con los receptores hipotalámicos MC4, inhibiendo la acción anorexianta de las melanocortinas, lo que conduce a la hiperfagia. Mientras el péptido agouti, fisiológicamente, no se expresa en el cerebro, el AGRP, se expresa con altos niveles en el núcleo *arcuatus* del ratón y del hombre, y en la mismas neuronas que expresan NPY (neuronas AGRP/NPY). Esta co-expresión en la misma neurona supone un incremento del *feed-back* de la leptina: Disminuye la señal orexigénica del NPY, y aumenta la acción anorexianta del péptido AGRP, al competir a nivel de receptor con la α -MSH. Aunque el neuropéptido Y, es la molécula orexígena más potente, el AGRP tiene una duración mucho más persistente. El gen de la hAGRP (humana), se ha clonado recientemente¹⁸. La proteína agouti (AGP), en el hombre está limitada al tejido adiposo. Estudios en ratones transgénicos agouti (*aP2-agouti*), diabéticos y ligeramente obesos, hacen suponer que su acción se efectúa en el mismo adipocito activando directamente la vía del PPAR- γ ¹⁹. Los niveles circulantes de AGRP se hallan incrementados en los obesos por lo que puede jugar un papel en su patogenia.

Vía catabólica. Anorexígena: Está representada por el grupo de neuronas que en el núcleo *arcuatus* coexpresan POMC/CART, moléculas catabólicas. Responden a la leptina, incrementando su expresión a la par que disminuye la de NPY/AGRP.

La proopiomelanocortina (POMC) es un propéptido precursor, que en su procesado postraslacional da origen a múltiples hormonas y neurotransmisores (ACTH, proinsulina, etc.). En el hipotálamo, tras la acción de la proconvertasa (*PC-1* y *PC-2*) liberan α -MSH y β -endorfina. La hiperfagia del déficit de leptina se debe en parte a la ausencia de inducción de α -MSH, inhibidor del apetito, mientras su acción sobre el MB es menos clara.

Receptores de melanocortina MCR-3 y MCR-4. Pertenecen a la superfamilia de receptores con 7 dominios transmembrana ligados a una proteína G. La α -MSH, es el principal agonista de dos isoformas de receptores, MC3R y MC4R. La complejidad se incrementa con el AGRP, antagonista fisiológico de los mismos receptores.

Las mutaciones del gen de la POMC o de la proconvertasa C-1, junto a la obesidad, presentan un cuadro más complejo (insuficiencia suprarrenal, pelo rojo, hiper-proinsulinemia, alteraciones gonadales, etc.), mientras que en el déficit de lo MC4R, la obesidad es "pura", sin otros sínto-

mas²⁰. Por otra parte, es quizá la única forma de obesidad monogénica relativamente frecuente (4 % de las obesidades mórbidas)²¹, habiéndose identificado, también, diferentes mutaciones en niños obesos²².

El papel de los MC3R está mucho menos estudiado que los MC4R, pero su acción parece más periférica que central²³, por ello en los ratones dobles mutantes (MC3R -/-) + (MC4R -/-), la obesidad es mayor, uniéndose a la excesiva ingesta, una mayor eficacia metabólica. En el hombre, parece necesario la presencia de otros alelos (herencia poligénica), para que las mutaciones de estos receptores promuevan obesidad.

CART. Es la otra molécula ligada a la vía catabólica, que se coexpresa con la POMC (neuronas POMC/CART), y que, como ella, inhibe el apetito, induciendo la expresión de *c-fos* en el núcleo *arcuatus*. Es igualmente la leptina quien estimula su expresión. Se ha descrito una mutación en un niño obeso perteneciente a una familia con obesidades importantes en 3 generaciones²⁴, así como polimorfismos relacionados con la obesidad²⁵.

Otras moléculas relacionadas con la regulación de la ingesta alimentaria que actúan a nivel del núcleo arcuatus. Se van conociendo otras sustancias que se expresan en el núcleo *arcuatus* que interrelacionan y modifican las respuestas a la leptina que hemos comentado, entre ellas tenemos:

- *GALP* (galanin-like peptide). Una nueva molécula que también se expresa en el núcleo *arcuatus*, guarda correlación positiva con la leptina y parece responder directamente a su acción²⁶. por lo cual está reducida en el ayuno y en el ratón *ob/ob*. Este grupo de moléculas estarían relacionadas con la acción inmediata de la leptina, a corto plazo mediante su acción tónica integradora sobre los circuitos de interacción de una variedad de hormonas y nutrientes²⁷.

- *Galanina.* La galanina péptido orexigénico relacionado con otros dos moduladores de la ingesta: el NPY y la CRH. La exposición a la leptina y galanina decrece la secreción de NPY un 33 % si las vías CRH están intactas. Esto demuestra que CRH y NPY participan en la regulación vía galanina y explica la baja potencia de la galanina en estimular el apetito *in vivo* comparado con el NPY²⁸.

- *Ghrelin.* Único ejemplo en la biología de péptido de 28 aa. unido a un ácido graso, el ácido N-octanoico, indispensable para su acción biológica. Se sintetiza en las células X/A de la submucosa gástrica, y su tasa plasmática está alrededor de 100-120 fmol. El *ghrelin* es un posible candidato como señal de una *feed-back* entre función motora gástrica, ingreso de nutrientes y SNC. Sus tasas plasmáticas guardan correlación con el estado de vaciamiento gástrico medido con técnicas no invasivas²⁹. Sería una señal apetito-estimuladora que parte desde el estómago, parecida a la motilina. Su expresión se incrementa por el ayuno y el ba-

lance energético negativo, y se regula a la baja tras la ingesta, o el balance energético positivo por ello muestra un patrón diurno con incremento preprandial y disminución posprandial³⁰. Negativamente regulado por la leptina y la IL-1 β , su inyección anula la anorexia inducida por este último. Posee potente actividad orexigénica, aumentando la expresión de NPY en el núcleo *arcuatus*, incrementando la ingesta alimentaria y disminuyendo el gasto energético. Por ello, el *ghrelin* forma parte de la cascada orexigénica desencadenada a partir de la leptina. A pesar de todo, los estudios en gemelos tras intervenciones alimentarias, no proporcionan evidencias de que el *Ghrelin* plasmático esté incriminado en la patogenia de la obesidad en humanos³¹.

Neuronas de segundo orden. Núcleo paraventricular. Región lateral del hipotálamo y área perifornical

Existe suficiente evidencia de que las neuronas citadas del núcleo *arcuatus* se proyectan en otras regiones del hipotálamo, particularmente el núcleo paraventricular (NPV), el área lateral del hipotálamo (ALH) y el área perifornical (APF). La acción de estas moléculas afecta a su unión a receptores de alta afinidad, receptores *Y1* e *Y5*, para el *NPY*, y *MC4R* para el *α MSH* y el *AGRP*, que actúa como antagonista. Sus características las hemos comentado previamente. Este grupo de neuronas, las sustancias que expresan y determinados neurotransmisores son los intermediarios que conectan la señal de la leptina con las neuronas caudales del tronco cerebral, el núcleo del tracto solitario, donde tienen lugar mecanismos autonómicos y neuroendocrinos. Allí se integran las señales mecánicas y químicas que proceden del aparato gastrointestinal que regulan el comienzo y fin de una comida, el hambre y la saciedad.

Núcleo paraventricular (NPV). Posee neuronas que expresan CRH y oxitocina (*OX*), con efectos anorexiantes, puestos de manifiesto cuando se inyectan intraventricularmente. Estas neuronas se proyectan, sobre el tronco cerebral, sobre todo el núcleo del tracto solitario, a donde llegan, entre otras, las señales de la distensión gástrica y la CCK, la cual atenúa su capacidad para limitar el tamaño de la comida, por antagonismo con los receptores de *OX*³². Es una región crítica donde se modulan las señales relacionadas con la comida, junto a aquellas de adiposidad que proceden del tejido adiposo (fundamentalmente leptina).

Área lateral del hipotálamo y perifornical. Posee neuronas que expresan "melanin-concentrating hormone" (*MCH*) y orexinas/hipocretinas, péptidos que estimulan el ingreso alimentario, se proyectan, igualmente, sobre el núcleo del tracto solitario. El *MCH* es un neuropéptido, que desempeña un papel importante en el control de la conducta alimentaria y el metabolismo energético. Recientemente un receptor huérfano acoplado a la proteína G, el *SLC-1/GPR24*, se ha identificado como un receptor para la *MCH* (*MCHR-1*). También se ha identificado el

receptor para *MCH* subtipo 2, también acoplado a la proteína G³³.

Señales aferentes generadas con la ingesta. Regulación inmediata de la comida

La ingesta alimentaria es intermitente, y el volumen y la composición de la comida variable. Entre sus componentes intervienen aspectos sociales, psicológicos, disponibilidad de los alimentos y estacionalidad de los mismos. Las señales de saciedad y de hambre regulan cada comida y a la larga el *set point* del peso de cada individuo, tiende a ser estable. Por su parte, 20 años después, de que Kennedy formulara su teoría del "adipostato"⁸, Gibbs et al³⁴, proponían una teoría para explicar la regulación de la cuantía de cada comida individual, mediante la emisión de "señales de saciedad", que procedentes del tracto gastrointestinal controlaban la ingesta. Propusieron la CCK, pero hoy sabemos que son múltiples. Este esquema completa perfectamente el anterior.

Señales de saciedad

En la determinación del comienzo de la comida, influyen probablemente más los factores psicológicos, la palatabilidad del alimento, etc., mientras el fin se regula por factores más fisiológicos. Quimioceptores y mecanoreceptores captan señales inducidas por la presencia y la densidad energética de los alimentos en el tracto GI, que se proyectan en el núcleo del *tractus solitarius*, vía humoral y vía vago, induciendo la saciedad posprandial inmediata.

Entre las señales humorales tenemos los distintos niveles de nutrientes (glucosa, *AGL*, etc.) y péptidos como la enterostatina derivada de la pro-colipasa que reduce el ingreso alimentario, sobre todo de grasa, la bombesina, etc., pero sin duda la más importante y más estudiada es la colecistocinina (*CCK*). Sin embargo, ni la densidad energética del alimento, ni las señales hormonales a corto plazo son suficientes por sí solas para producir cambios sustanciales en el balance energético y la adiposidad corporal. Sus relaciones con el sistema de control a largo plazo leptin-dependiente, a través de la interacción con receptores de *OX* ya han sido comentados más arriba. Por ejemplo, los animales tratados con leptina, consumen el mismo número de comidas, pero estas son más pequeñas. A este circuito hay que añadir el péptido orexigénico gástrico, el *ghrelin*, del que ya nos hemos ocupado. La grasa y la fructosa no inducen la secreción de insulina y leptina, por ello su débil producción puede conducir a obesidad a largo plazo ante dietas ricas en estos nutrientes.

El receptor de la *CCK* (*CCK1R*) tiene un papel en la regulación de la ingesta calórica, se han descrito mutaciones en pacientes obesos, que disminuyen la expresión y la eficacia para estimular la vía del inositol-fosfato. Polimorfismos o mutaciones del *CCK1R* pueden afectar regulación de la saciedad *CCK*-inducida, aunque son necesarios más estudios para evaluar la importancia de este factor³⁵. Las ratas *OLEFT*

(Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty), se han utilizado como modelo para alguno de estos estudios. Carecen de receptores CCK-A, y son obesas, diabéticas e hiperfágicas.

Los neurotransmisores (serotonina 5-HTA, dopamina DA y noradrenalina NA) tienen un papel decisivo en las sinapsis de todo el sistema nervioso. Actuando sobre ellos se puede modular la respuesta alimentaria (p. ej., la sibutamina).

Mediadores eferentes

Son, fundamentalmente los glucocorticoides y el sistema simpático autónomo.

Los glucocorticoides son componente clave del sistema eferente. Incrementan la ingesta y, en su ausencia, la leptin-deficiencia, o las lesiones del núcleo ventromedial del hipotálamo, no causan obesidad.

El sistema simpático adrenérgico, activa los tejidos termogénicos vía receptores 3- β -adrenérgicos, modificando la calorificación, lo que lleva a mayor gasto energético.

Respecto a los receptores 3- β -adrenérgicos, a principios de los 80 se describe un receptor beta-adrenérgico "atípico", el β (3)-adrenorreceptor (β (3)-AR). Los agonistas estimulan la lipólisis, la oxidación grasa, el gasto energético y la acción de la insulina. Su clonación ha permitido desarrollar nuevos compuestos para posible uso terapéutico, más potentes y selectivos que los actuales como los de la serie del (4-piperidin-1-yl)fenil-amidas³⁶. Su acción, no sólo es aumentar la lipólisis y/o la termogénesis, sino que interfieren la formación del adipocito a través de una disminución de la expresión del PPAR- γ , receptores retinoides, y la unión de los AGL a la proteína aP2³⁷.

La mutación del gen β (3) AR, Trp(64)Ag, fue descrita en 1995 en los indios Pima. Posteriormente, Inukai et al la describe en pacientes con obesidad, hiperinsulinemia, hipertensión y grasa preperitoneal³⁸. Otro trabajo, en población alemana, no encuentra mayor frecuencia de esta mutación entre los diabéticos que en la población control³⁹.

EL OTRO COMPONENTE DEL BALANCE ENERGÉTICO: EL GASTO ENERGÉTICO

Los componentes del gasto energético son:

1. *El gasto energético obligatorio* (requerido para funcionamiento de células y órganos), "metabolismo basal". Representa el 70 % del gasto energético, incluye el coste obligatorio energético de las funciones celulares: gradientes iónicos, síntesis proteica, etc. Depende de la ingesta alimentaria ("acción dinámica específica") y de la exposición al frío.

2. *Actividad física* (variable), *crecimiento* (en la infancia) y *termogénesis adaptativa*. Se considera que las UCP tienen un papel fundamental en la termogénesis.

Si el balance entre el ingreso de energía y el gasto energético total es positivo, el individuo incrementará sus de-

pósitos grasos (primer principio de la termodinámica o de Joule). Es obvio que la termogénesis adaptativa no es igual para todos los individuos, se trata del cumplimiento del segundo principio de la termodinámica o principio de Carnot: aumento de la entropía del sistema en toda transformación energética, en forma de calor no recuperable. Esto tiene lugar en la mitocondria, donde el alimento se convierte en dióxido de carbono, agua y ATP (fosforilización oxidativa), reacción exotérmica, que genera más o menos calor, lo que significa que la renovación del ATP, puede ser más o menos eficiente.

Una mejor utilización de la energía sería uno de los componentes del denominado "genotipo ahorrador" (*thrifty genotype*), sobre el que puede actuar de forma negativa el progreso⁴⁰, o con los denominados por Prentice "pueblos cruzadores de mares", como ha ocurrido con la selección de este genotipo, en los negros americanos descendientes de los esclavos traídos de África⁴¹.

Proteínas desacopladoras

El descubrimiento de las "proteínas desacopladoras" (*uncoupling protein*), UCP-1-2-3 y las últimas descubiertas la UCP4 y UCP5, han supuesto un gran avance en el conocimiento de los mecanismos de la utilización energética y la termogénesis. En las células eucariotas el ATP se regenera por la fosforilización oxidativa en la mitocondria, donde la cadena respiratoria crea un gradiente electroquímico de protones a ambos lados de la membrana. Este gradiente la utiliza la *ATP-sintasa* para fosforilar el ADP y convertirlo en ATP. El acoplamiento ADP/respiración es sólo parcial ya que la proteína desacopladora, causa reentrada de los protones al interior de la matriz y abole el gradiente electroquímico de protones desacoplando la síntesis de ATP. La energía liberada producida por los movimientos exotérmicos de protones se disipa en forma de calor. El rendimiento neto en ATP es: para los hidratos de carbono del 75 %, la grasa del 90 % y las proteínas del 55 %⁴².

La UCP1, se expresa de forma específica en la grasa bru o parda, altamente termogénica (fundamental en el recién nacido en su lucha contra el enfriamiento). El ratón KO para el gen *UCP1* desarrolla hipotermia, demostrando el importante papel que tiene en la termogénesis tras exposición al frío, mientras el ratón transgénico con sobreexpresión de UCP1, tiene reducida la masa grasa. Pero en humanos, la grasa bru sólo es importante en el neonato, por ello la UCP1 parece tener escaso papel en el adulto, que apenas tiene grasa parda.

La UCP2 también se expresa en la grasa parda y en otros tejidos y células, incluidos monocitos y macrófagos. El ratón UCP2 KO no es obeso, muestra buena tolerancia al ejercicio, y la termogénesis frío inducida es normal. Sin embargo, se han obtenido con estos ratones, más recientemente, resultados contradictorios, pues reducen masa grasa a pesar de incrementar la ingesta alimentaria. Hacen falta más estudios⁴³.

La UCP3 se expresa predominantemente en músculo regula la acción termógena de las hormonas tiroideas (que se han intentado utilizar como tratamiento de la obesidad, apoyado en este mecanismo). La tiroxina incrementa su síntesis (y también UCP2). El músculo esquelético es importante lugar para regular la termogénesis, después del período neonatal, donde la disipación del gradiente de protones mitocondriales puede alcanzar hasta el 50% de la tasa metabólica en reposo⁴⁴. El gen *UCP3* está localizado en c11q13, y el de *UCP2* a continuación a sólo 7 kb. Presenta dos diferentes transcripciones, una forma larga *UCP3L* (312 aa) y otra corta *UCP3S* (275 aa).

Parece que la entrada de sustratos en el músculo, como lípidos y glucosa, regularía su expresión y con ello la termogénesis. Los AGL o los acil-CoA, intracelulares, pueden ser los más importantes reguladores del *UCP3* muscular, a través del PPAR- γ , regulado, a su vez, por el metabolismo lipídico⁴⁵. Igualmente, la entrada de glucosa en el músculo determinaría la síntesis de *UCP3*. En el ratón el ejercicio que consume ATP, necesita ácidos grasos y glucosa para aporte energético, tras el mismo se incrementa 14-18 veces la cantidad de *UCP3*⁴⁶. A pesar de todo, no está claro si la *UCP3* tiene un importante papel en la termogénesis. En ratas obesas Zucker (fa/fa) y Wistar comparadas con controles tiene respectivamente un 41 y un 76% menos de *UCP3* en sus músculos.

Recientemente se han incluido dos nuevas proteínas transportadoras de aniones mitocondriales, que pertenecen a un grupo distinto de las anteriores la *UCP4*, que se expresa exclusivamente en cerebro y la *UCP5* (también *BMCP1*), que se expresa en diferentes tejidos pero sobre todo cerebro y testículo. Su expresión se modifica por el ayuno, disminuyendo, y aumentando con la dieta rica en grasa, por lo que parece intervienen en la termorregulación tejido específica (sí en el hígado y no en el cerebro), y adaptada a los cambios nutricionales⁴⁷.

Referente a la genética, un polimorfismo muy común G/A, en la región del promotor del *UCP2*, está asociado a una disminución del riesgo de obesidad en humanos de edad media⁴⁸. Sin embargo el estudio de los polimorfismos y mutaciones en los genes de *UCP1*, *UCP2*, *UCP3* no está asociado a alteraciones importantes del peso corporal⁴⁹.

Mutaciones y polimorfismos del gen *UCP3* se han detectado en pacientes con obesidades importantes⁵⁰ y Schrauwen et al, encuentran entre los indios Pima correlación negativa en músculo entre IMC y expresión de *UCP3*⁵¹. Sin embargo, en otros trabajos, no se han encontrado diferencias en la cantidad de *UCP3* entre obesos y delgados, por lo que el papel de la *UCP3* en el gasto energético y en la obesidad ha sido controvertido.

PAPEL METABÓLICO DEL ADIPOCITO. ADIPOCITOGÉNESIS: MULTIPLICACIÓN Y MADURACIÓN DE LOS ADIPOCITOS.

LIPOGÉNESIS

Papel metabólico del adipocito

La propia célula adiposa tiene un papel decisivo en el balance energético. La leptina, segregada por el adipocito, regula la masa grasa a través, fundamentalmente, del NPY y el α -MSH, pero de la presencia de receptores de leptina en tejidos periféricos se dedujo que jugaba otros muchos papeles (sistema reproductor, hematopoyético, etc.), y a la par que se amplían estos conocimientos, la lista de proteínas activas producidas por el adipocito, aumenta constantemente. Hoy en día cabe considerar al tejido adiposo como un importante órgano endocrino. Algunas de estas proteínas son citocinas inflamatorias (*TNF- α* , *IL-6*, *Macrophage migration inhibitory factor [MIF]*), otras tienen un papel en el metabolismo lipídico, o de los hidratos de carbono (adiponectina, resistina, lipina, perilipina), otras están implicadas en la hemostasia (*plasminogen activator inhibitor-1 [PAI-1]*), en la tensión arterial (angiotensinógeno, enzima convertidora de la angiotensina [ECA]), angiotensina II, y receptores de angiotensina), o con el sistema complemento (*acylation-stimulation-protein (ASP)*, *Acrp30/AdipoQ*). Su acción puede ser auto, para o endocrina, pero, en definitiva, son sustancias relacionadas con la génesis de la obesidad o con sus consecuencias: el *TNF- α* , la *IL-6*, la resistina, están implicadas en la insulín-resistencia y la aterosclerosis, el *PAI-1* está relacionado con la trombogénesis, los componentes del sistema renina-angiotensina con la hipertensión, etc.

Como la lista actual es amplísima, comentaremos brevemente las más importantes.

Últimamente las *citocinas* aparecen como moduladores fundamentales del tejido adiposo. Las proteínas relacionadas con el sistema inmunitario incluyen la adiposina, la *acylation-stimulation protein" (ASP)*, *adipocyte complement-related protein (Acrp30/AdipoQ)*, tumor necrosis factor α (*TNF- α*), *interleucina-6 (IL-6)* y el *MIF*. Otros productos con acción inmunológica incluyen componentes del sistema complemento y el "factor estimulante de colonias de macrófagos".

Los adipocitos, preadipocitos y otras células, pueden sintetizar *TNF- α* , y varias interleucinas, sobre todo la *IL-1 β* y la *IL-6*. El *TNF- α* y la *IL-6* están moderadamente elevados en los obesos. Ambos inhiben la lipoproteína-lipasa, por su parte el *TNF- α* estimula la lipasa hormono-sensible, e induce la expresión de *UCP*. También regula a la baja la captación de glucosa insulín-estimulada, vía efecto sobre el transportador de la glucosa-4, la autofosforilización del receptor de insulina y el insulín-receptor sustrato-1. Todos estos efectos tienden a reducir la acumulación de lípidos en el tejido adiposo. Otras acciones parecen más "tróficas", e incluyen la inducción de apoptosis, regulación del tamaño celular e inducción de la desdiferenciación (esto último afecta a la reducción de la PPAR- γ). Las citocinas son potentes estimuladores y represores de otras citoci-

nas, además de modular otros sistemas regulatorios. Un ejemplo de esto último incluye los efectos sobre la secreción de leptina (probablemente estimulación seguida de inhibición), así como la reducción de la expresión del β -3-AR.

Lo que todavía no está claro es cual de las citocinas derivadas del tejido adiposo actúa como regulador remoto, es decir hormonal. Parece que la IL-6, junto a la leptina (estructuralmente es una citocina), desempeñarían esta acción, y no el TNF- α , que sin embargo, posee una acción reguladora, autocrina y paracrina, mucho más poderosa que las anteriores sobre el tejido adiposo. Corroborando esta opinión existe la observación de que el ratón IL6 $^{-/-}$, que no expresa IL-6, desarrolla obesidad en la madurez, que revierte al inyectar IL-6 intraventricularmente, pero no periféricamente, luego su acción es central⁵². A mayor abundamiento la administración prenatal de IL-6 a ratas produce a incremento posnatal de depósitos grasos, lo que indica que induce programaciones de la regulación neuroendocrina con influencia en la vida posnatal⁵³.

La importancia del sistema inmunitario sobre el balance energético global proporciona un punto de unión entre citocinas proinflamatorias y tejido adiposo. Hasta el punto de que la elevación de todas estas sustancias en la obesidad (proteína-c reactiva, TNF- α , IL-6, etc.), ha llevado a considerarla, por sus efectos, como una enfermedad inflamatoria sistémica de bajo grado, lo que en opinión de ciertos autores explicaría el beneficioso efecto de la lactancia natural, rica en LCPUFA's (inhibidores de la producción de citocinas proinflamatorias), para prevenir la obesidad del lactante, aconsejando prolongar la ablactación hasta la edad de 1 año⁵⁴.

Otras proteínas relacionadas con el sistema inmunitario

Acylation-Stimulation protein (ASP) se genera por la interacción del factor D del complemento (idéntico a la adiposina), el factor B y el C3 del complemento, todos ellos componentes de su vía alternativa. Actúa como una señal paracrina que incrementa la eficacia de la síntesis de triacilglicerol, lo que conlleva un aclaración rápida posprandial de lípidos. El ratón KO para esta proteína conduce a una reducción de la grasa corporal, resistencia a la obesidad, e incremento de la sensibilidad a la insulina. Su principal regulador parecen ser los quilomicrones, procedentes de la grasa de la dieta.

El *Acrp30/AdipoQ*, posee secuencias homólogas con el C1q, primer componente de la vía de activación clásica del complemento. Como la adiposina, es abundante en suero normal y su secreción se incrementa por la insulina. Esto sugiere que pudiera funcionar como una molécula señal del adipocito, y regular de algún modo la homeostasis energética.

La adiponectina (ApN) es una proteína adipocito-derivada (adipocitocina), importante insulín-sensibilizante, la cual es regulada a la baja en la resistencia insulínica y en la obesidad, por lo que en los estados adiponectin-defi-

cientes mejora la sensibilidad insulínica. Parece decisiva en la patogenia del síndrome metabólico. El gen que los sintetiza se expresa en las membranas celulares del adipocito (apM1). Y es regulado a la baja reversiblemente por la insulina, y el TNF- α ⁵⁵.

La producción de adiponectina se estimula por los agonistas del PPAR- γ , quizá el efecto de la mejoría de estos compuestos sobre la insulín-resistencia se deba a esta acción. La adiponectina posee propiedades putativas antiaterogénicas y antiinflamatorias, sobre los componentes celulares de la pared vascular. La reducción del peso corporal eleva los niveles de ApN en plasma (adipocitocina protectora). El tratamiento de adipocitos con TNF- α incrementa la secreción de Macrophage Migration Inhibitory Factor (*MIF*), otra citocina proinflamatoria, que puede mediar en la mencionada insulín-resistencia inducida por el TNF- α .

Proteínas relacionadas con la función vascular

El tejido adiposo contiene todos los componentes principales del sistema renina-angiotensina: angiotensinógeno, enzima convertidora de la angiotensina (ECA), angiotensina II, y receptores de angiotensina, la escisión de los productos del angiotensinógeno se ha implicado en el crecimiento del tejido adiposo debido a la estimulación de las *prostaglandinas* producidas por el adipocito maduro, promoviendo, por mecanismo autocrino y paracrino, la diferenciación del adipocito.

La angiotensina II incrementa la lipogénesis tanto en adipocitos humanos como en cultivo de adipocitos.

PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1). Es un inhibidor específico del activador del plasminógeno, puede ser el regulador fundamental de la activación del plasminógeno *in vivo*. Su fuente principal son las células de estroma del tejido adiposo humano, sobre todo visceral. El PAI-1 está elevado en los sujetos insulín-resistentes, habiéndose demostrado niveles más altos de PAI-1 en grasa omental que en la subcutánea, lo que representa riesgo incrementado de aterotrombosis⁵⁶.

Proteínas inhibidoras de las señales de citocinas relacionadas con feed-back negativos **SOCS-3 (suppressor of cytokine signaling)**

La expresión de SOCS-3 se halla aumentada en tejido adiposo del ratón obeso, pero no en su hígado ni músculo. La insulina y el TNF- α , elevados en la obesidad, inducen la expresión de SOCS-3 en el ratón. La insulina induce una expresión transitoria de SOCS-3 en hígado, músculo y tejido adiposo, mientras, el TNF- α , induce una sostenida expresión de SOCS-3, esencialmente en tejido adiposo. Por otra parte, el ratón transgénico *ob/ob* y con ausencia de receptores TNF, tiene una acusada disminución de la expresión de SOCS-3 en tejido adiposo, comparado con ratón *ob/ob*, lo cual evidencia la importancia de esta citocina en la expresión de SOCS-3 en la obesidad. Como el SOCS-3 se presenta como un gen diana para TNF- α , que está elevado

durante la obesidad, y como el SOCS-3 antagoniza la fosforilización insulín-inducida, se sugiere la importancia de este factor en el desarrollo de la insulín-resistencia⁵⁷. Por otra parte, a pesar de una significativa ganancia de peso por dieta rica en grasa, asociada a un incremento importante de la leptina circulante, los niveles de SOCS-3 no se alteran, en contraste con la administración exógena de leptina que induce un incremento muy notable de SOCS-3. Se concluye que un ingreso colórico alto no es suficiente para provocar supresión de las señales de leptina vía este factor en animales sin predisposición genética a la obesidad⁵⁸.

Resistina. Tiene una acción paracrina, junto al TNF- α , atenuando los efectos anabólicos de la insulina, pero con mecanismos de acción todavía sujetos a controversia, dados los resultados contradictorios en los escasos estudios todavía realizados. Es un péptido segregado específicamente por los adipocitos, antagónico de la acción de la insulina, en el ratón, elemento de unión entre obesidad y diabetes tipo 2. En este animal, el tratamiento con resistina recombinante empeora la tolerancia a la glucosa y la acción de la insulina en la obesidad dieta inducida, mientras que el uso de anticuerpos antiresistina mejora ambas cosas⁵⁹.

Sin embargo en el hombre apenas se expresa en adipocitos maduros, mientras se expresa de forma importante en los peradipocitos, su regulación a la baja coincide la diferenciación adipogénica, además no hay correlación con la insulín-resistencia, por lo que la expresión de la resistina en el tejido adiposo no tiene gran papel en esta insulín-resistencia en el humano⁶⁰. A las mismas conclusiones se llega cuando se estudia la expresión de la resistina/Fizz3 murina, que guarda relación con obesidad, insulín-resistencia y PPAR- γ , pero cuyos resultados no son trasladables a los humanos⁶¹.

Incluso si los niveles elevados de la resistina, segregada por los adipocitos, se ha propuesto como causa de insulín-resistencia y punto de unión entre obesidad y diabetes tipo 2, hay trabajos que demuestran que su expresión está significativamente disminuida en tejido adiposo blanco de diferentes modelos murinos de obesidad (ob/ob, db/db, tub/tub). Además en respuesta a diferentes clases de anti-diabéticos agonistas del PPAR- γ , la expresión de resistina se incrementa, lo que demuestran que la obesidad experimental en roedores está asociada a un severo defecto de expresión de resistina, y que la disminución de esta expresión no se requiere para la acción anti-diabética de los agonistas del PPAR- γ ⁶².

Proteínas del adipocito, relacionadas con la adipogénesis

Perilipina A. Codificada por el gen *Plin*, es una proteína adipocítica que modula la actividad de la lipasa hormono-sensible (HSL). El ratón *plin* $-/-$, consume más alimento que los controles, pero su peso es normal y sus adipocitos blancos son un 62% menores, y muestran una lipólisis basal elevada⁶³. La introducción de alelos *Plin* $-/-$ en ratón leptina db/db revierte la obesidad al incrementar la tasa me-

tabólica. Por ello medicaciones que inactiven la perilipina pueden ser útiles como medicaciones antiobesidad⁶⁴.

En definitiva, la lipólisis fue 5 veces más lenta en la células cargadas de lípidos que expresan perilipina, por ello almacenan 6-30 veces más triacilglicerol que las células control. No inhibe la HSL, sino que estabiliza la grasa debido a que forma una barrera que reduce el acceso de lipasas solubles a los depósitos de lípidos. Por ello su papel es fundamental en la regulación de estos depósitos.

Lipina. Nueva familia de proteínas nucleares con tres miembros de momento en mamíferos, pero con homólogos en especies tan distantes como las levaduras, se requiere para un desarrollo normal del tejido graso, sus mutaciones gen candidato para la lipodistrofia⁶⁵.

Adipocitogénesis: multiplicación y maduración de los adipocitos

El crecimiento del tejido adiposo supone aumento del tamaño y número de los adipocitos, habiendo siendo objeto de investigación en los últimos 20 años, y más particularmente en los años recientes. Fue la base de la clasificación de obesidad por "hipertrofia" y por "hiperplasia".

Diferenciación del adipocito

La *stem cell* mesenquimatosas puede diferenciarse en adipocitos, condrocitos, osteoblastos y miocitos. En el hombre, el número y tamaño de los adipocitos se incrementa tras el nacimiento, aunque la capacidad para diferenciarse en nuevas células persiste de por vida. En la rata se ha demostrado que el número de adipocitos se incrementa notablemente con la alimentación rica en hidratos de carbono, pero en los humanos no se conoce exactamente la influencia de la alimentación a este respecto.

El preadipocito pasa por diferentes fases hasta llegar al adipocito maduro⁶⁶:

A. **Detención del crecimiento. Condición necesaria para que se inicie la diferenciación.** Dos factores, el PPAR- γ y C/EBP- α , se ha demostrado que transactivan genes específicos del adipocito que conducen al cese del crecimiento y al inicio de la diferenciación.

B. **Expansión clonal.** Los preadipocitos deben recibir una combinación apropiada de señales mitogénicas y adipogénicas que continúan a través de las siguientes etapas de la diferenciación, en la que intervienen una serie de genes, *growth arrest specific (gas)*.

C. **Etapas precoces en la expresión genética.** La expresión de mRNA (LPL), se ha citado a menudo como signo precoz de diferenciación, pero, no es un marcador específico de la madurez del tejido adiposo. Al menos dos familias de factores de transcripción se inducen durante el período temprano de madurez:

Familia PPARs (peroxisome proliferator-activated receptor). Pertenecen a la familia de receptores nucleares tipo II y forman heterodímeros con el receptor retinoide X (RXR). Se activan por muy variados componentes (tiazolidinedionas, clofibrato, etc.). El PPAR- γ es un factor de transcripción específico del adipocito, se expresa mínimamente en el pre-adipocito, y se incrementa rápidamente tras la diferenciación, siendo máximo en el adipocito maduro.

La activación suprafisiológica mediante tiazolidinedionas reduce la insulín-resistencia pero incrementa la obesidad, mientras una reducción moderada de la actividad en el ratón o el hombre, mediante un antagonista de el PPAR- γ o del RXR previene la insulín-resistencia y al mismo tiempo la obesidad través de un incremento de leptina y adiponectina. Paradójicamente, una severa reducción del PPAR- γ depleciona marcadamente el tejido adiposo blanco, por lo que disminuye la leptina y adiponectina, conduciendo a un incremento de AGL e insulín-resistencia.

Familia C/EBP (CCAAT/enhancer binding protein). Es requerido y es suficiente para iniciar la diferenciación. Las diferentes isoformas C/EBP α , β , δ tienen un patrón de expresión temporal y espacial distinto durante la diferenciación del adipocito.

Durante la diferenciación el adipocito adquiere su forma esférica, lo cual no se debe al progresivo cúmulo de TG sino a cambios importantes estructurales del citoesqueleto y de la matriz pericelular.

D. *Últimos eventos y diferenciación terminal*. En esta fase los adipocitos incrementan la lipogénesis *de novo* y adquieren sensibilidad a la insulina se multiplican por 10-100 veces las enzimas de la lipogénesis y del metabolismo de la glucosa, e incremento absoluto de receptores adrenérgicos, con disminución de los subtipos β_1 y β_2 y aumento de los AR- β_3 .

Modulación de la diferenciación del adipocito por hormonas, citocinas y "factores de crecimiento". Hormonas y factores de crecimiento que tienen un papel en la diferenciación del adipocito actúan vía receptores específicos que transmiten señales externas de crecimiento o diferenciación a través de una cascada de eventos intracelulares (tabla 1).

Se ha aceptado que el adipocito maduro no puede diferenciarse ni volver a entrar en mitosis. Sin embargo, adipocitos maduros tratados con TNF- α pueden desdiferenciarse, perder marcadores de adipocitos maduros, hacerse espículas y entrar en mitosis.

Lipogénesis. Síntesis de triglicéridos: Acil-CoA: diacilglicerol-acil-transferasa

El almacén de triglicéridos está constantemente sometido a fenómenos de síntesis e hidrólisis (ciclos fútiles), con gasto de energía, lo cual podría influir en el balance energético final. El adipocito sintetiza proteínas que intervienen en el almacenamiento de los triglicéridos, como la perili-

TABLA 1. Principales factores que intervienen en la maduración del adipocito (cultivos celulares)

Agentes	Efectos sobre preadipocitos
Insulina	+ (Acelerada acumulación de lípidos)
Glucocorticoides	+ (Para la mayoría de los cultivos)
T3	+ (Para pocos cultivos)
Ácido retinoico	-/+ (Concentración-dependiente)
GH	+ Requerido para la mayoría
IGF-I	+ Requerido para pocos cultivos
EGF, TGF- α	- Para la mayoría
TGF- β	- Potente inhibidor
FGF	-/o no efecto
PDGF	-/+ o no efecto
IL-1, interferón- γ , TNF- α	-/o no efecto
PGF- 2α	- Para la mayoría
PGI $_2$	+ Para algunos
Fosfocolina, dibutilil-AMPc	-/+ Concentración dependiente
TPA	- Para la mayoría

IGF-I: insulin-like growth factor-I; EGF: epidermal Growth-factor; TGF: transforming growth factor; FGF: fibroblast growth factor; PDGF: platelet-derived growth factor; IL-1: interleukin-1; TNF- α : tumor necrosis factor- α ; PG: prostaglandinas; TPA: 12-O-tetradecanoilforbol-13 acetato.

pina, dificultando la lipólisis. En la síntesis es fundamental la diacilglicerol-acil-transferasa (Dgat), una enzima microsomal clonada en 1998⁶⁷, y que cataliza el paso final y limitante en la síntesis de triglicéridos, vía del glicerolfosfato, y que por ello es otra molécula diana en el tratamiento de la obesidad.

Para terminar, y abundando en el caudal de conocimientos que referidos a la obesidad se acumulan en los últimos tiempos sólo citaremos el último trabajo que acaba de aparecer a las horas de escribir esta revisión, relacionado con la clonación de una hembra de ratón B6C3F1, fenotipo obeso, que no se ha transmitido a la descendencia de ratones clonados, que merece la portada del último número de la revista *Natur Medecine*⁶⁸.

BIBLIOGRAFÍA

1. Metropolitan Life Insurance. New weight standards for men and women. Stat Bull 1959; 40: 13.
2. Teasdale TW, Sorensen TI, Stunkard AJ. Genetic and early environmental components in sociodemographic influences on adult body fatness. Br Med J 1990; 300: 1615-1618.
3. Bouchard C, Tremblay A, Despreés JP et al. The response to long-term overfeeding in identical twins. N Engl J Med 1990; 322: 1477-1482.
4. Stunkard AJ. New therapies for the eating disorders: Behavior modification of obesity and anorexia nervosa. Arch Gen Psychiatr 1972; 26: 391-989.
5. Ayyad C, Andersen T. Long-term efficacy of dietary treatment of obesity: A systematic review of studies published between 1931 and 1999. Obesity Rev 2000; 1: 113-120.

6. Fisher JO, Birch LL. Fat preferences and fat consumption of 3- to 5-year old children are related to parental adiposity. *J Am Diet Assoc* 1995; 95: 759-764.
7. Fogelholm M, Nuutinen O, Pasanen M et al. Parent-child relationship of physical activity patterns and obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23: 1262-1268.
8. Kennedy GC. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond* 1953; B140: 579-592.
9. Montagne CT, Farooqi IS, Whithead JP. Congenital leptin deficiency associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387: 903-908.
10. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med* 1999; 341: 879-884.
11. Dagogo-Jack S. Human leptine regulation and promise pharmacotherapy. *Curr Drug Targets* 2001; 2: 181-195.
12. Strobel A, Issat T, Camoin L et al. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 1998; 18: 213-215.
13. Westertep-Platenga MS, Saris WH, Hukshorn CJ et al. Effects of weekly administration of pegilate recombinant human OB protein on appetite profile and energy metabolism in obese man. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 426-434.
14. Lee JH, Reed DR, Price RA. Leptin resistance is associated with extreme obesity and aggregates in families. *Int Obes Relat Metab Disord* 2001; 25: 1471-1473.
15. Campfield L, Smith F, Gulsez Y et al. Mouse OB protein: Evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 1995; 269: 546-549.
16. Clement K, Vaisse C, Lahlou N et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 392: 398-401.
17. Kanatani A, Hata M, Mashiko S et al. Atypical Y1 receptor regulates feeding behaviors: Effects of a potent and selective Y1 antagonist, J-115814. *Mol Pharmacol* 2001; 59: 501-505.
18. Brown AM, Mayfield Dk, Volaufova J et al. The gene structure and minimal promoter of the human agouti related protein. *Gene* 2001; 77: 231-238.
19. Mynatt RL, Stephens JM. Agouti regulates adipocyte transcription factors. *Am J Physiol Cell* 2001; 280: 954-961.
20. Huszar D, Lynch CA, Fairchild-Huntress V et al. Targeted disruption of melanocortin 4 receptor results in obesity in mice. *Cell* 1997; 88: 131-141.
21. Mori Y. Regulation of appetite by melanocortin and its receptors. *Nipón Rinsho*.
22. Dubern B, Clement K, Pelloux V et al. Mutational analysis of melanocortin-4 receptor, agouti related protein, and alpha-melanocyte-stimulating hormone genes in severe obese children. *J Pediatr* 2001; 139: 177-181.
23. Chen AS, Marsh DJ, Trumbauer ME et al. Inactivation of the mouse melanocortin 3 receptor results in increased fat mass and reduced lean body mass. *Nature Genetics* 2000; 41: 518-521.
24. del Giudice EM, Santoro N, Cirillo G et al. Mutational screening of the CART gene in obese children: Identifying a mutation (Leu34Phe) associated with reduced resting energy expenditure and cosegregating with obesity phenotype in a large family. *Diabetes*. 2001; 50: 2157-2160.
25. Yamada K, Yuan X, Otabe S et al. Sequencing of the putative promoter region of the cocaine- and amphetamine-regulated-transcript gene and identification of polymorphic sites associated with obesity. *Int J Relat Metab Disord* 2002; 26: 132-136.
26. Jureus A, Cunningham MJ, Johnson LL et al. Distribution and regulation of galanin-like peptide (GALP) in the hypothalamus of the mouse. *Endocrinology* 2001; 142: 5140-5144.
27. Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M et al. Leptine activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 2001; 411: 480-484.
28. Bergonzelli GE, Pralog FP, Glauser M et al. Interplay between galanin and leptin in the hypothalamic control of feeding via corticotropin-releasing hormone and neuropeptide Y. *Diabetes* 2001; 50: 2666-2672.
29. Tschop M, WaWarta R, Riepl RL et al. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 2001; 24: 19-21.
30. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 240-244.
31. Ravussin E, Tschop M, Morales S et al. Plasma ghrelin concentration and energy balance: Overfeeding and negative energy balance studies in twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5972.
32. Olson BR, Hoffman GE, Sved AF et al. Cholecystokinin induces c-fos expresión in hypothalamic oxytocinergic neurons projecting to the dorsal vagal complex. *Brain Res* 1992; 569: 238-248.
33. An S, Cutler G, Zhao JJ et al. Identification and characterization of a melanin-concentrating hormone receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 7576-7581.
34. Gibbs J, Young RC, Smith GP. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J Comp Physiol Psychol* 1973; 84: 488-495.
35. Marchal-Victorien S, Vionnet N, Escrieut C et al. Genetic, pharmacological and functional analysis of cholecystokinin- and cholelactin-2 receptor polymorphism in type 2 diabetes and obese patients. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 23-30.
36. Hu B, Ellingboe J, Hans S et al. (4-piperidin-1-yl)phenyl-amides: potent and selective human β -(3) agonists. *J Med Chem* 2002; 26: 1456-1466.
37. Margareto J, Larrarte E, Martí A, Martínez JA. Up-regulation of a termogenesis-related gene (UCP1) and down-regulation of PPARgamma and P2 genes in adipose tissue: Possible features of the antiobesity effects of beta 3 adrenergic agonists. *Biochem Pharmacol* 2002; 15: 1471-1478.
38. Inukai T, Tayama K, Inukai Y et al. Clinical features of a polymorphism of the beta 3-adrenergic receptor gene in patients with type 2 diabetes mellitus—a study using a pin-point sequencing method. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001; 109: 386-388.
39. Oeveren Van-Dybicz AM, Vonkeman HE, Bon MA et al. Beta 3-adrenergic receptor gene polymorphism and type 2 diabetes in a Caucasian population. *Diabetes Obes Metab* 2001; 3: 47-51.
40. Hirsh J, Leibel RL. New light on obesity. *N Engl J Med* 1988; 318: 509-510.
41. Prentice AM. Epidemiology and health risks of obesity. *Topical Endocrinology Chapterhouse Codex Ltd.*, 1997; 6: 2.
42. Flatt JP. Macronutrient composition and food selection. *Obes Res* 2001; 9 (Suppl 4): 256-262.
43. Claphan JC, Arch JRS, Chapman H et al. Mice overexpressing human uncoupling protein-3 in skeletal muscle are hyperphagic and lean. *Nature* 2000; 406: 415-418.
44. Rolfe DFS, Brand MD. Contribution on mitochondrial proton leak to skeletal muscle respiration and standard metabolic rate. *Am J Physiol* 1996; 271: 1380-1389.
45. Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O. Mitochondrial uncoupling protein 3 (UCP3) in skeletal muscle. *Frontiers in Bioscience* 2001; 6: 570-574.
46. Tsuboyama-Kasaoka N, Tsunoda N, Maruyama M et al. Up-regulation of uncoupling protein 3 (UCP3) mRNA by exercise training.

- ning and down-regulation of UCP3 by denervation in skeletal muscles. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 247: 498-503.
47. Yu XX, Mao W, Zhong A et al. Characterization of novel UCP5/BMCP1 isoforms and differential regulation of UCP4 and UCP5 expression through dietary or temperature manipulation. *FASEB J* 2000; 14: 1611-1618.
 48. Esterbauer H, Schneitler C, Oberkofler H et al. A common polymorphism in the promotor of UCP2 is associated with decreased risk of obesity in middle-aged humans. *Nat Genet* 2001; 28: 178-183.
 49. Dalgaard LT, Pedersen O. Uncoupling proteins: functional characteristics and role in the patogenesis of obesity and Type II diabetes. *Diabetologia* 2001; 44: 946-965.
 50. Lanuette CM, Giacobino JP, Perusse L et al. Association between uncoupling protein-3 gene and obesity-related phenotypes in the Québec Family Study. *Mol Med* 2001; 7: 433-441.
 51. Schrauwen P, Xia C, Bogardus RE et al. Skeletal muscle uncoupling protein 3 expression is a determinant of energy expenditure in pima indians. *Diabetes* 1999; 48: 146-149.
 52. Wallenius V, Wallenius K, Ahren B et al. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med* 2002; 8: 75-79.
 53. Dahlgren J, Nilsson C, Jennische E et al. Prenatal cytokine exposure results in obesity and gender-specific programming. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 281: 326-334.
 54. Das UN. Is obesity and inflammatory condition? *Nutrition* 2001; 17: 953-966.
 55. Fasshauer M, Klein J, Neumann S et al. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290: 1084-1089.
 56. Alessi MC, Morange P, Juhan-Vague I. Fat cell function and fibrinolysis. *Horm Metab Res* 2000; 32: 504-508.
 57. Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C et al. SOCS-3 inhibits insulin signaling and is up-regulated in response to tumor necrosis factor-alpha in the adipose tissue in obese mice. *J Biol Chem* 2001; 276: 479.
 58. Preiser C, McGregor GP, Lang RE. Leptin receptor expression and suppressor of cytokine signaling transcript levels in high-fat-fed rats. *Life Sci* 2000; 67: 2971-2981.
 59. Stephan CM, Bailey ST, Bat S et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 292-293.
 60. Janke J, Engeli S, Gorzelniak K et al. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res* 2002; 10: 1-5.
 61. Savage DB, Sewter CP, Klenk ES et al. Resistin/Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes* 2001; 50: 2199-2202.
 62. Way JM, Görgün CZ, Quian-Tong K et al. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor agonist. *J Biol Chem* 2001; 276: 651-653.
 63. Martinez-Botas J, Anderson JB, Tessier D et al. Absence of perilipin in leanness and reverses obesity in *Lepr(db/db)* mice. *Nat Genet* 2000; 26: 474-479.
 64. Tansey JT, Sztalryd C, Gruia-Gray J et al. Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production and resistance to diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 6494-6499.
 65. Peterfy M, Phan J, Xu P, Reue K. Lipodystrophy in the fld mouse results from mutation of a new gene encoding a nuclear protein, lipin. *Nat Genet* 2001; 27: 121-124.
 66. Cases S, Smith SJ, Zhen Y-W et al. Identification of a gene encoding an acyl CoA: Diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 13018-13023.
 67. Gregoire FM, Smas CM, Sook Sul H. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev* 1998; 78: 783-809.
 68. Tamashiro K, LK, Wakayama T, Akutsu H et al. Cloned mice have an obese phenotype not transmitted to their offspring. *Nature Med* 2002; 8: 262-267.