

Genómica de la regulación del peso corporal: mecanismos moleculares que predisponen a la obesidad

Raúl A. Bastarrachea, Shelley A. Cole y Anthony G. Comuzzie

Department of Genetics. Auxology and Metabolism Working Group. Southwest Foundation for Biomedical Research. San Antonio. Texas. EE.UU.

La obesidad se ha convertido en un problema de salud pública mundial que afecta a millones de personas. En los últimos años se ha alcanzado un notable avance en la comprensión de la patogenia de la homeostasis energética. También se ha establecido que la obesidad tiene un fuerte control genético. Los estudios de adopción, los efectuados en gemelos y en familias han demostrado que los factores genéticos desempeñan un papel preponderante en el desarrollo de la obesidad. La obesidad monogénica en humanos es muy rara en la población en general. La forma más frecuente de obesidad se considera un trastorno poligénico. Existe una verdadera necesidad de desarrollar nuevas opciones terapéuticas para tratar esta enfermedad metabólica común. La identificación de factores bioquímicos y fisiológicos que desencadenan las alteraciones metabólicas observadas en la obesidad es el aspecto prioritario en el desarrollo de opciones terapéuticas más apropiadas. El descubrimiento de nuevos genes y nuevas vías metabólicas involucradas en la patogenia de esta enfermedad es crítico para lograr estos objetivos. Sin embargo, la identificación de genes que contribuyen al riesgo de desarrollar esta enfermedad representa un enorme desafío, ya que la obesidad es una enfermedad compleja cuya etiología es múltiple y abarca causas genéticas y del medio ambiente. Se ha utilizado diversos enfoques para descubrir y validar nuevos genes potenciales para la obesidad. Hasta la fecha, los enfoques basados en el cribado del ADN utilizando genes candidatos y análisis de vínculos de escaneo genómico amplio no han sido completamente exitosos en la identificación de regiones genómicas o genes involucrados en el desarrollo de esta enfermedad. Avances recientes que han proporcionado la capacidad para evaluar datos sobre análisis de vínculos de árboles genealógicos en núcleos familiares extensos, y que utilizan la variancia de los componentes basados en estos análisis de vínculos, han demostrado ser muy prometedores para identificar con relativa precisión regiones en el genoma asociadas con el desarrollo de la obesidad. Los estudios de mutaciones raras causantes de obesidad en humanos y modelos animales han proporcionado los conocimientos fundamentales para desentrañar los complejos procesos fisiológicos característicos de este padecimiento, y han complementado los estudios basados en poblaciones que pretenden revelar su causa primaria. Los progresos tan extraordinarios logrados en ambos frentes y la velocidad con la que avanzan parecen dirigirnos hacia una aceleración en la obtención del conocimiento necesario, que viaja a la par con la expansión de la genómica funcional y el alcance de la madurez del proyecto del genoma humano. Los enfoques basados en genética mendeliana y cuantitativa parecen dirigirse a un punto de convergencia, para finalmente conducirnos hacia tratamientos más racionales y selectivos.

Palabras clave: Genética. Obesidad. Vínculo. *Locus de rasgos cuantitativos (QTL)*. Escaneo genómico. *Tanis. Beacon*.

Este trabajo fue patrocinado en parte por aportaciones de los Institutos Nacionales de Salud (NIH de EE.UU., becas HL4522, HL28972, DK059264 y HD41111) y de la Southwest Foundation for Biomedical Research.

Correspondencia: Dr. R.A. Bastarrachea.
Auxology and Metabolism Working Group. Department of Genetics.
Southwest Foundation for Biomedical Research.
P.O. Box 760549. San Antonio, Texas 78425-0549. USA.
Correo electrónico: raulbs@darwin.sfr.org

Recibido el 7-1-2004; aceptado para su publicación el 19-3-2004.

Genomics of body weight regulation: unraveling the molecular mechanisms predisposing to obesity

Obesity has become a worldwide public health problem which affects millions of people. Substantial progress has been made in elucidating the pathogenesis of energy homeostasis over the past few years. The fact that obesity is under strong genetic control has been well established. Twin, adoption and family studies have shown that genetic factors play a significant role in the pathogenesis of obesity. Human monogenic obesity is rare in large populations. The most common form of obesity is considered to be a polygenic disorder. New treatments are currently required for this common metabolic disease and type 2 diabetes. The identification of physiological and biochemical factors that underlie the metabolic disturbances observed in obesity is a key step in developing better therapeutic outcomes. The discovery of new genes and pathways involved in the pathogenesis of such a disease is critical to this process. However, identification of genes that contribute to the risk of developing the disease represents a significant challenge since obesity is a complex disease with many genetic and environmental causes. A number of diverse approaches have been used to discover and validate potential new genes for obesity. To date, DNA-based approaches using candidate genes and genome-wide linkage analysis have not had a great success in identifying genomic regions or genes involved in the development of these diseases. Recent advances in the ability to evaluate linkage analysis data from large family pedigrees (using variance components-based linkage analysis) show great promise in robustly identifying genomic regions associated with the development of obesity. Studying rare mutations in humans and animal models has provided fundamental insight into a complex physiological process, and has complemented population-based studies that seek to reveal primary causes. Remarkable progress has been made in both fronts and the pace of advance is likely to accelerate as functional genomics and the human genome project expand and mature. Approaches based on Mendelian and quantitative genetics may well converge, and ultimately lead to more rational and selective therapies.

Key words: Genetics. Obesity. Linkage. Quantitative trait loci (QTLs). Genome scan. *Tanis. Beacon*.

La obesidad se considera actualmente una verdadera epidemia y un problema de salud pública en todo el mundo. De acuerdo con el Centro Nacional para Estadísticas en Salud (NCHS por sus siglas en inglés), en el año 2002 prácticamente el 64% de la población adulta de EE.UU. presentaba sobrepeso, con índices de masa corporal (IMC) iguales o superiores a 25, y el 31% presentaba obesidad con IMC iguales o superiores a 30¹. En los países europeos, la prevalencia de la obesidad también se ha incrementado de forma dramática en los últimos 10 años. Datos actuales de estudios efectuados en diferentes naciones de dicho continente indican que la prevalencia de obesidad en Europa Occidental alcanza intervalos entre el 10 y el 20% para varones y entre el 10 y el 25% para mujeres. Para las mujeres del centro y este de Europa, la prevalencia es aún más elevada, calculándose entre el 20 y el 30%^{2,3}. No cabe la menor

duda de que esta epidemia se ha ramificado desde las naciones altamente industrializadas, con niveles de ingresos elevados, hacia las naciones en vías de desarrollo, con escaso potencial económico e industrial que han moldeado sus hábitos con cambios en su urbanización, con el uso de tecnología sofisticada y con el acceso fácil e inmediato a cantidades abundantes de comida procesada, lo que ha provocado un drástico y constante cambio en el estilo de vida en estos países hacia el sedentarismo, la ingesta de dietas altas en contenido de grasa saturada y alimentos calóricamente densos⁴.

Esta pronunciada transición nutricional y de estilo de vida ha alcanzado a Asia, América Latina, Próximo Oriente y el norte de África, dando como resultado que en esta inmensa población se observen tendencias similares a las observadas actualmente en EE.UU. El curso y la prevalencia de la obesidad también reciben una fuerte influencia secundaria a la globalización económica, cuya tendencia es dirigir las oportunidades laborales hacia actividades que prácticamente demandan un nulo gasto de energía comparadas con las del pasado, cuando las actividades remuneradas demandaban trabajos de intensa labor física como la agricultura. Este estilo de vida sedentario es desafortunadamente apuntalado con actividades recreativas orientadas a entretenér a las masas como la televisión⁵. Aunque es aparentemente claro que este marcado incremento mundial de la obesidad es atribuible a un medio ambiente tóxico u «obesogénico», caracterizado por la ingesta de demasiadas calorías a través del consumo de porciones enormes de alimentos energéticamente densos y por un hábito alejado de la práctica cotidiana de actividad física, los avances en la investigación biomédica en los últimos 10 años han demostrado que los factores genéticos predisponen claramente a un individuo dado a desarrollar obesidad⁶⁻⁸.

En esta incesante búsqueda de marcadores genéticos de la obesidad, se ha documentado una importante contribución genética para entender el desarrollo y las interacciones de esta enfermedad y sus fenotipos relacionados⁹. Estos hechos se demuestran claramente en los resultados de los múltiples estudios genéticos efectuados hasta finales del año 2002, que han aportado la descripción científica de más de 300 genes, marcadores y regiones cromosómicas vinculados a fenotipos de la obesidad. Se han identificado 68 *locus* de rasgos cuantitativos (*quantitative trait loci*, QTL por sus siglas en inglés) en humanos y 168 QTL en modelos animales para fenotipos de obesidad de rastreos genómicos completos. Existen 222 estudios que indican una asociación positiva con 71 genes candidatos, de los que 15 se han evidenciado en 5 estudios positivos. Se han identificado genes candidatos fuertes o causales para 23 de 33 síndromes mendelianos relevantes a la obesidad humana¹⁰. El objetivo de esta revisión es presentar el papel definitivo y categórico de la contribución genética en la patogenia de la obesidad humana, para evaluar su exacta dimensión e importancia dentro de la epidemiología y el enfoque terapéutico de este serio problema de salud pública, y así poder entenderla como el arquetipo de las enfermedades multifactoriales, complejas, comunes y poligénicas que surgen bajo fuertes influencias psicosociales y del medio ambiente.

Adaptación y maladaptación: de cazadores-recolectores a nuestro medio civilizado generador de obesidad

Existe una amplia evidencia de que la especie humana que vive hoy día en este mundo rodeada de avances tecnológicos estaba perfectamente adaptada para sobrevivir en las etapas de la era prehistórica como cazadores-recolectores.

Parece ser que nuestro genoma evolucionó progresivamente bajo las presiones de un medio ambiente donde las oportunidades para conseguir alimentos eran escasas y muy difíciles¹¹. Las necesidades de sobrevivir dictaron que en la especie humana se integraran aspectos adaptativos que determinaron la aparición y el desarrollo del tejido adiposo, como un medio para almacenar grasa en los adipocitos y asegurar en lo posible la supervivencia ante períodos de hambruna y privación que siempre han azotado al planeta en que vivimos. Estos hechos parecen indicar que, muy al principio de nuestra etapa evolutiva, genes específicos fueron seleccionados para asegurar la supervivencia de nuestra especie, específicamente durante largos y difíciles períodos de escasez^{12,13}.

La biología comparativa animal nos muestra cómo diferentes especies han desarrollado diferentes mecanismos fisiológicos y bioquímicos adaptativos para sobrevivir a partir de una selección específica de genes que progresivamente evolucionan en el medio ambiente que los rodea. Muchos animales marinos viven rodeados de abundantes nutrientes y no necesitan desarrollar depósitos de tejido adiposo, de modo que no almacenan tejido adiposo. Nunca presentan obesidad. Grupos específicos de mamíferos hibernantes son excelentes ejemplos de modelos animales cuya genética ha evolucionado para adaptarse a comer vorazmente cuando disponen de alimentos ricos en grasa, para prepararse a experimentar pérdidas y reobtención de peso cíclicas durante los meses de escasez en el invierno y de abundancia en la primavera¹⁴. Otros modelos animales como los rumiantes han evolucionado y seleccionado genes que les han permitido adaptar su sistema gastrointestinal a la extracción de nutrientes de alimentos ricos en celulosa, de muy escaso contenido calórico, y su composición corporal es preferentemente libre de grasa¹⁵⁻¹⁷.

El aspecto común fundamental de estas tendencias evolutivas animales y del ser humano radica en la fuerte capacidad de sus genomas para manufacturar los mecanismos biológicos apropiados para sobrevivir en sus diferentes hábitats a través del tiempo. Estos genes específicos que interactúan con el medio ambiente cuidadosamente diseñados para almacenar energía y asegurar una reserva suficiente para garantizar la supervivencia de la especie en cuestión, principalmente en períodos de escasez de alimentos, se han denominado, al menos en el caso de los humanos, genes susceptibles al desarrollo de la obesidad, o genes ahorradores (*thrifty genes*)^{18,19}. Esta noción queda reforzada por el hecho de que el cuerpo humano tiene una capacidad muy limitada para almacenar proteínas e hidratos de carbono, así como para promover lipogénesis *de novo* al consumir hidratos de carbono. Por este motivo, la ingesta de grasa, y su almacenamiento en el tejido adiposo como la principal fuente de reserva energética, constituye otra importante adquisición de la evolución^{20,21}. Comparado con los años que se necesitaron para ensamblar nuestra arquitectura genética para sobrevivir, el medio ambiente se ha alterado drásticamente en el transcurso de los últimos 10.000 años, particularmente en los últimos 200 años, exponiendo a nuestros genes «ahorradores» a un medio ambiente tóxico que actúa como un potente promotor de enfermedades crónicas, de alta prevalencia, complejas y frecuentes como la diabetes, la hipertensión esencial, la aterosclerosis y la obesidad. Por eso, muchos autores proponen que el principal culpable de esta epidemia de obesidad ha sido nuestro medio ambiente, que ha promovido una ingesta excesiva de calorías y un estilo de vida sedentario²²⁻²⁴.

Sin embargo, a pesar de este medio ambiente obesogénico, la especie humana tiene una amplia variabilidad en su susceptibilidad a desarrollar obesidad^{8,9,13,25-27}. Mas allá de po-

siciones categóricas con respecto a su génesis²⁴, parece que es necesaria una relación sinérgica entre los genes y el medio ambiente para establecer que, ante la presencia de una predisposición genética, la posibilidad de desarrollar obesidad se encuentra ampliamente determinada por nuestro estilo de vida y el medio ambiente que nos rodea. La integración del concepto es muy difícil y complicada, ya que interviene el aspecto poligénico en su comprensión; está implicada la interacción de muchos genes que contribuyen relativamente con muy pocos efectos y que actúan en combinación unos con otros y conjuntamente con factores del medio ambiente. El resultado es la aparición de rasgos muy complejos a través del accionamiento de una red múltiple y heterogénea de genes susceptibles a diferentes y abrumadores factores del medio ambiente como la ingesta de nutrientes y la actividad física. Por ello la identificación de genes susceptibles al desarrollo de la obesidad es una tarea difícil y problemática, pero al mismo tiempo nos ofrece la gran oportunidad de desentrañar los aspectos íntimos de las bases moleculares y biológicas de la obesidad, para entender completamente su fisiopatología y, en última instancia, traducir estos conocimientos para diseñar medicamentos más seguros y para ofrecer métodos más eficaces para su diagnóstico^{8,13,25,28}.

Grado de heredabilidad de la adiposidad humana

La magnitud de la contribución genética al desarrollo de la obesidad está bien documentada en múltiples estudios de familias, gemelos y personas en adopción²⁹⁻³². El grado de heredabilidad es la medición de la contribución relativa del factor genético a la variabilidad de cierto rasgo³³. Una porción sustancial de la variación en la adiposidad humana puede atribuirse a la transmisión genética³⁴. Como la obesidad es un proceso patológico complejo que se define por una serie de mediciones, como el IMC, la masa grasa corporal y las concentraciones de leptina, entre otras, y puesto que estos fenotipos son rasgos clara y continuamente distribuidos, un enfoque genético cuantitativo se antoja pertinente para analizar genéticamente la obesidad²⁸. Otro enfoque para estimar la importancia de la genética en el desarrollo de la obesidad es el cálculo del riesgo de ser obeso cuando un pariente de primer grado es obeso o cursa con sobre peso. De esta manera se ha podido determinar que el riesgo de obesidad extrema (IMC mayor de 45) es hasta 7-8 veces mayor en familias con parientes que cursan con dicha obesidad extrema³⁵. El tipo de fenotipos a utilizar ha sido también motivo de amplio debate. El IMC ha sido el más utilizado dada su disponibilidad y el bajo costo de su medición, pero otras mediciones antropométricas son también valiosas para considerarlas fenotipos, como serían la masa grasa corporal total, el porcentaje de masa grasa, la medición de la circunferencia abdominal, la proporción cintura/cadera, especialmente ante la posibilidad de medir estas variables con más precisión en amplios grupos poblacionales con técnicas como la absorciometría radiológica de doble energía, la tomografía computarizada y la resonancia magnética. Otros fenotipos de interés para la búsqueda de genes candidatos o de QTL serían los relacionados con el metabolismo del tejido adiposo, como los valores séricos de leptina, el índice metabólico en reposo y el cociente respiratorio, entre otros⁹. Muchos estudios han señalado que aproximadamente el 40-70% de la variación en el IMC puede atribuirse a factores genéticos¹³. Estudios longitudinales en gemelos adolescentes y adultos, tanto monocigóticos como dicigóticos y gemelos monocigóticos criados en diferentes familias, han demostrado el más alto índice de heredabilidad (alrede-

dor del 70%), mientras que los estudios en adopción han demostrado índices bajos, de alrededor del 30%^{36,37}. Estudios en familias nucleares y extensas han encontrado índices de heredabilidad entre el 20 y el 80%^{38,39}. La estimación de la heredabilidad para el total de la masa grasa corporal se sitúa entre un 20 y un 65%, mientras que para el porcentaje de masa grasa las estimaciones varían del 55 al 80%^{40,41}. La estimación de la heredabilidad para la distribución corporal de grasa varía del 28 al 61% para la proporción cintura/cadera, y del 29 al 82% para la circunferencia abdominal⁴²⁻⁴⁵. Se ha estimado que los valores séricos de leptina tienen un intervalo de heredabilidad del 0 al 70%. Esta amplia variabilidad podría deberse a los diversos métodos utilizados en el diseño de los estudios o a la gran heterogeneidad de las muestras poblacionales de las investigaciones⁴⁶⁻⁴⁸.

Métodos utilizados para identificar genes involucrados en el desarrollo de la obesidad

La identificación de genes que causan enfermedades a través de análisis de genética molecular ha detectado con éxito rasgos monogénicos que poseen patrones simples de herencia mendeliana, como en la fibrosis quística⁴⁹. Sin embargo, las llamadas enfermedades complejas, entre las que se incluyen la obesidad, la diabetes tipo 2, la hipertensión, la enfermedad cardiovascular, el asma, esquizofrenia y el cáncer, no conforman el patrón simple monogénico hereditario mendeliano. El desarrollo de estas enfermedades se encuentra bajo la influencia de múltiples variables genéticas y del medio ambiente que interactúan en conjunto para incrementar el riesgo de padecerlas. Hay una serie de factores que potencialmente dificultan el estudio de las enfermedades complejas; entre los más importantes figuran los siguientes: la heterogeneidad genética (o de *locus*), donde diferentes genes en diferentes posiciones en el genoma ejercen influencia sobre el riesgo de desarrollar la enfermedad; la heterogeneidad alélica, donde variaciones diferentes en el mismo gen causan alteraciones fisiológicas similares y la aparición de la enfermedad; la penetrancia incompleta, en la que, a pesar de la presencia de mutaciones en el gen que causa la enfermedad, ésta no se manifiesta quizás debido a un ambiente que no lo permite; a otros factores genéticos compensatorios o a situaciones debidas al azar; la fenocopia, donde la aparición esporádica de la enfermedad es posible a pesar de la presencia de factores de riesgo mínimos porque el medio ambiente contribuye a ella e incrementa enormemente su aparición, y la herencia poligénica, donde, dependiendo de la estructura fisiológica de los productos genéticos, es necesario que existan mutaciones en varios genes simultáneamente para el desarrollo de la enfermedad⁵⁰.

Existen 3 enfoques fundamentales que se han utilizado para la identificación de genes involucrados en el desarrollo de las enfermedades, en este caso, la obesidad. El primero se denomina estudio de asociación de gen candidato único tradicional, en el que se investiga la asociación entre una variante genética específica y una variación fenotípica. Son genes que se cree tienen participación en el desarrollo de la obesidad por mecanismos o efectos biológicos que se presume o se sabe relevantes en: a) la regulación de la ingesta de alimentos bajo control del sistema nervioso central; b) la modulación de las acciones de la insulina y el metabolismo de la glucosa en tejidos blanco que pudieran contribuir a un exceso de acumulación de tejido graso y al desarrollo de resistencia a la insulina inducida por la obesidad, y c) la regulación del gasto energético y el metabolismo del tejido adiposo en general, incluyendo la oxidación lipídica, lipólisis y

lipogénesis. El procedimiento común para estudios de genes candidatos se dirige a identificar variaciones genéticas con el fin de genotipificarlas en muestras poblacionales extensas de casos y controles no relacionados entre sí. Para detectar asociaciones, se efectúan análisis estadísticos con el fin de determinar si la enfermedad y algún alelo en particular muestran algún acontecimiento relacionado en dicha población a través del examen de las frecuencias de los alelos y el genotipo^{25,51,52}.

El segundo enfoque se denomina escaneo genómico amplio (*genom-wide scan*) e intenta detectar regiones cromosómicas como los QTL y, finalmente, genes dentro de esas regiones o QTL, en los que se pueda demostrar vínculos con la obesidad en una colección amplia de núcleos familiares. Los análisis de vínculos, utilizando marcadores polimórficos uniformemente espaciados a través del genoma completo, identifican regiones cromosómicas con significación estadística cosegregacional con la enfermedad. Esta estrategia no requiere suponer la función de los genes en el *locus susceptible*, ya que su intención es el mapeo de genes exclusivamente por su posición. Los análisis estadísticos más comúnmente utilizados determinan si las regiones o segmentos genómicos demuestran transmisión correlacionada (vínculo genético), dentro de un núcleo familiar emparentado entre sí, con la herencia del rasgo medido. Es habitual que la región genómica encontrada en un estudio de vínculo sea larga, de 10-30 cM (centimorganos), por lo que, para reducir un QTL a una región genómica mucho más circunscrita, son necesarios extensos mapeos finos para al final poder identificar los genes susceptibles denominados posicionales^{6,28,53}.

En general, esta búsqueda de genes que predisponen a la obesidad sigue el método clásico para la identificación de determinantes genéticos que predisponen al desarrollo de enfermedades, denominado análisis de vínculo, donde se estudia la cosegregación de marcadores de alelos con el fenotipo de la enfermedad en cuestión para poder mapear su localización cromosómica. Estos estudios utilizan típicamente 400-600 marcadores polimórficos (microsatélites) distribuidos a través del genoma humano para determinar la localización aproximada del gen causal de la enfermedad. Este procedimiento se denomina escaneo genómico. El siguiente paso es refinar la localización genética, situación que actualmente es muy fácil ya que se dispone de mapas genéticos humanos de alta resolución⁵⁴⁻⁵⁶. Posteriormente, se secuencian los genes localizados dentro de la región implicada para tratar de identificar la alteración o alteraciones genéticas presentes en individuos afectados pero ausentes en miembros no afectados del mismo árbol genealógico. Estas alteraciones genéticas se aceptan como las causas aparentes de la enfermedad. En la actualidad, este enfoque, también denominado de clonación posicional^{57,58}, se ve enormemente facilitado por la disponibilidad de la secuenciación del genoma humano⁵⁹. La principal diferencia entre un gen candidato posicional y un gen candidato tradicional radica en que cada gen posicional se considera solamente si se ha detectado de acuerdo con su proximidad a un QTL que ha sido previamente identificado a través de análisis de vínculo en un escrutinio amplio del genoma. Por lo tanto, el enfoque de escaneo genómico amplio ofrece la posibilidad de identificar genes novedosos o sin sospecha previa de su influencia sobre el fenotipo en cuestión. Como dato relevante, este enfoque no impide que cualquier gen candidato tradicional pueda considerarse candidato posicional, porque podría ser que dicho gen fuera señalizado en la región de vínculo del QTL⁶⁰.

El tercer enfoque para la identificación de genes se basa en el perfil de expresión genética de los tejidos, donde se pue-

de comparar la variación entre individuos obesos y delgados, y otras muestras informativas de diferentes tejidos. Este enfoque específico se basa en el ARN, a diferencia de los 2 enfoques previamente descritos, que se basan en el uso de ADN. La obtención de ARN en muestras de tejido es la principal desventaja con las de ADN, ya que requiere algunas veces procedimientos quirúrgicos elaborados para efectuar la biopsia, lo que incrementa el riesgo de infección para los pacientes. El ARN es menos estable desde el punto de vista químico que el ADN y su manejo requiere especial cuidado para evitar que la muestra se degrade. Se intuye que la más contundente información sobre estudios en expresión genética se obtendrá del tejido donde la enfermedad se manifiesta por sí misma. El gran inconveniente parece que dependerá de la localización de tejido, ya que la biopsia quizás represente demasiado riesgo para el participante⁵².

Descubrimiento de obesogenes a través de estudios en modelos animales

Es por todos conocido actualmente que existen varias formas de modelos espontáneos monogénicos de obesidad en roedores. En los últimos años, se han clonado los genes responsables de estas formas monogénicas de obesidad y se han revelado genes candidatos interesantes para el estudio de las bases genéticas de la obesidad humana^{61,62}. Se han identificado genes simples con mutaciones que dan lugar a obesidad en varias cepas de roedores, los cuales se han denominado *ob*, *db*, *agouti*, *fat*, *tubby* y *mahogany*. Todos ellos codifican moléculas proteicas que parecen interactuar en vías fisiológicas ejerciendo una gran influencia en la homeostasis energética, la regulación del peso corporal y el almacenamiento del tejido adiposo⁶³⁻⁶⁵. El roedor *agouti* amarillo presenta una mutación dominante que confiere a dicho mutante un fenotipo obeso, con crecimiento lineal incrementado, y una cubierta de piel de color amarillo. Dicha mutación expresa una proteína ectópica que al parecer es antagonista del receptor central de melanocortina 4 (MC4R), afecta directamente al sistema neuroendocrino y causa el síndrome de obesidad-melanocortina. Su mutación similar en el humano se encuentra en el gen MC4R⁶⁶. Se observó una supresión natural de la mutación inducida por *agouti* al estudiar 2 mutaciones naturales autosómicas recesivas denominadas *mahogany* (*mg*) y *mahoganoid* (*md*). Parecen estar causadas por mutaciones en el gen *attractin*. Ambas mutaciones son capaces de desviar la síntesis de la melanogénesis de feomelanina a eumelanina y reprimir la obesidad inducida por *agouti*⁶⁷⁻⁶⁹.

Los 2 modelos animales de obesidad monogénica mejor descritos son los roedores mutantes *ob* (*obese*) y *db* (*diabetes*), que son deficientes en la ya bien conocida hormona adipostática circulante leptina y su receptor *LepR*, respectivamente, lo que da lugar a un incremento en la ingesta calórica y al desarrollo de obesidad y diabetes. Parece ser que estos genes tienen un papel importante en la acumulación del tejido adiposo en edades tempranas del desarrollo⁷⁰⁻⁷². Las otras mutaciones en roedores son recesivas y dan lugar a fenotipos que asocian la obesidad con disfunciones endocrinas y metabólicas, como es el caso de la mutación homocigótica de la enzima carboxipeptidasa E (Cpe) en roedores *fat*, que provoca una elevación de las concentraciones plasmáticas de proinsulina pancreática. El gen similar en el ser humano es la proconvertasa 1^{73,74}. Otra mutación es la del gen *tubby*, que da lugar a déficit sensoriales múltiples, presentando un fenotipo de obesidad moderado que se inicia en la vida adulta del roedor. A diferencia de la mutación Cpe en roedores de la cepa *fat*, los mutantes *tubby* presen-

tan resistencia a la insulina^{75,76}. Aunque las diferencias de especies, obvias entre el ser humano y otros animales, no permiten una completa analogía comparativa en sus funciones biológicas, no se puede negar que la existencia de una inmensa variedad de modelos animales ha sido determinante para poder entender muchos aspectos de la genética y la fisiología de la obesidad humana⁷⁷⁻⁷⁹. Estos modelos, particularmente los roedores, han sido motivo de profunda investigación para tratar de identificar genes análogos en la especie humana, a través de la manufactura de cepas mutantes de ratones genéticamente modificados en los que se han podido dilucidar varias de las vías metabólicas que intervienen en la regulación del peso corporal⁸⁰.

Un enfoque cuantitativo genético para el estudio del peso corporal en roedores nos brinda la oportunidad de investigar importantes aspectos de la arquitectura genética que solamente pueden enfocarse desde un sistema de modelo animal en que los efectos del medio ambiente y la genética se mantienen constantes⁸¹. Una importante ventaja de la utilización de roedores u otros animales de laboratorio como un sistema de modelo en genética cuantitativa estriba en poder seleccionar fenotipos específicos como, por ejemplo, el gasto energético⁸². El amplio espectro de variaciones genéticas existentes, asociado a un corto tiempo de reproducción generacional, aunado al bajo coste en su manejo, permite que se considere a los roedores en particular un modelo apropiado para esta clase de enfoques. Un análisis de los diferentes QTL nos brinda la oportunidad de determinar si algunos genes ejercen control sobre el balance energético independientemente de la adiposidad o la ingesta de alimentos, o si otro grupo de genes actúa de manera coordinada en todos los componentes de la regulación del balance energético^{83,84}. Es interesante constatar que la relativa facilidad con que los QTL se identifican en los roedores, en comparación con los seres humanos, ha permitido integrar un mapa genético para la obesidad poligénica en el ratón que es muy fiable pero demasiado denso^{51,64}.

Quizá la variable más contundente para la aparición de obesidad humana es la disponibilidad y la composición de la dieta. Varios estudios han demostrado que diferencias poco aparentes en la composición corporal y la acumulación del tejido adiposo entre cepas criadas en cautiverio pueden magnificarse y volverse muy obvias al ofrecerse un cambio en la alimentación, pasando de dietas normocalóricas a esquemas dietéticos altos en grasa saturada. Esta posibilidad de manipular intencionadamente las variables del medio ambiente nos enseña que, ante la presencia de interacciones entre el medio ambiente y la genética, los efectos de una susceptibilidad genética elevada se tornan muy manifiestos si se amplían o provocan con factores de riesgo existentes en el medio ambiente⁸⁵⁻⁸⁷. Varios de estos QTL relacionados con la adiposidad, el peso corporal y otros fenotipos relacionados con la obesidad se han detectado por mapeo en posiciones cercanas para mutaciones genéticas de un gen único simple implicado en el desarrollo de obesidad. Se han identificado *locus* en los cromosomas 6 y 7 en cepas de ratones BSB; el primero se encontró muy cercano al gen de la leptina, mientras que el segundo poseía vínculos con la grasa corporal, el colesterol total y la actividad de la lipasa hepática⁸⁸. De manera similar, el *locus* del cromosoma 4 identificado en la cepa SWR/J X AKR/J incluye el gen del receptor de la leptina *LepR*⁷¹. Ya que los límites de confianza para los QTL de la obesidad en roedores son suficientemente amplios, las localizaciones homólogas en el genoma humano parecen ser extensas. Esta equivalencia se ejemplifica en 2 QTL del roedor denominados obesidad-1mob-1 y qt-1, en los que supuestamente se han podido posicionar

los genes de las proteínas no acopladoras 2 y 3⁸⁹.

En los últimos años la tecnología transgénica ha proporcionado varios modelos de roedores obesos que han ayudado a aclarar las funciones de varios genes específicos y proteínas con respecto a su influencia en las vías fisiológicas que controlan la homeostasis energética^{63,90,91}. Con el advenimiento de la tecnología de recombinación del ADN, ha sido posible manipular la expresión transgénica (Tg), que implica la introducción y sobreexpresión de genes en roedores, y que constituye uno de los enfoques más utilizados en la investigación molecular en obesidad junto con la técnica de interrupción genética denominada tratamiento de knockout (KO) genético, o de recombinación homóloga. Esta última es un método más directo y refinado que consiste básicamente en la interrupción de la expresión de genes endógenos específicos. Dichas técnicas han permitido entender la relativa importancia del marco genético que controla la regulación del peso corporal a través de la asociación entre las anomalías resultantes y el gen interrumpido o sobreexpresado. En la última actualización del mapa genético de la obesidad humana se mencionan por primera vez 39 genes identificados con técnicas de KO y Tg^{10,65,92}.

Trastornos sindrómicos de la obesidad

La distribución anormal y excesiva de tejido adiposo es característica de algunos síndromes mendelianos, también denominados formas sindrómicas de la obesidad, en los que la obesidad es una de las manifestaciones clínicas del trastorno, pero no el cuadro dominante. El síndrome de Prader-Willi, un proceso autosómico dominante, es el que ha sido mejor caracterizado y el más frecuente de los síndromes de obesidad en el ser humano. Su prevalencia estimada y sus características clínicas se han descrito en muchos estudios^{93,94}. Aproximadamente el 70% de los pacientes presenta una anomalía en varios genes localizados en el cromosoma paterno 15. La mayoría de los casos restantes presentan una disomía materna en el mismo cromosoma. Estudios recientes han demostrado que translocaciones o mutaciones en la secuencia pequeña de ARN nucleolares C/D dentro del gen de la nucleorriboproteína *SNRPN* causan una importante pérdida de su función y generan el desarrollo de este síndrome⁹⁵.

La prevalencia del síndrome de Bardet-Biedl (BBS) es de 1 por 160.000 habitantes en Inglaterra y de 1 por 13.500 en Oriente Próximo debido a la consanguinidad. Se han identificado genes causales en 3 *locus* distintos del BBS, denominados BBS2, BBS4 y BBS6⁹⁶. La mutación del gen de BBS2⁹⁷ se identificó en el cromosoma 16q21 y la función de este gen aún no se ha determinado. El gen relacionado con BBS4 fue identificado en el cromosoma 15q22.3-q23 y el producto proteico demuestra una fuerte similitud con la O-N-acetylglucosaminotransferasa, que en humanos se ha relacionado con el desarrollo de resistencia a la insulina⁹⁸. BBS6 está causado por mutaciones en el gen *MKKS* (síndrome de McKusick-Kaufman), que presenta similitudes con una proteína bacteriana chaperona que parece tener un papel relevante en la regulación de la integridad proteica⁹⁹. También se ha descrito una mutación en un segundo *locus* identificado en el cromosoma 11q34, designado como gen de BBS1, y recientemente se ha descrito la identificación de una nueva proteína denominada BBS7, que comparte propiedades estructurales con BBS1 y BBS2^{100,101}. Otras formas sindrómicas de obesidad incluyen el síndrome de Cohen, el de Borjeson, la osteodistrofia hereditaria de los síndromes de Albright, Wilson-Turner y Alstrom. La mayoría de estas formas sindrómicas se han relacionado genética-

mente con diferentes regiones cromosómicas, pero los genes causales han sido muy difíciles de aislar debido a la rareza extrema de estas mutaciones. Además, los productos de las mutaciones genéticas que se han identificado como causantes de estos síndromes no han demostrado influencia alguna en la regulación del balance energético¹⁰².

Formas monogénicas de obesidad humana

Las mutaciones encontradas en los genes humanos que causan obesidad homólogas a las de los roedores tienen la característica de pertenecer a la misma vía metabólica que controla el apetito y la homeostasis energética, tienen a la obesidad como el cuadro dominante y son independientes de factores del medio ambiente. Desde el punto de vista histórico^{103,104}, las mutaciones espontáneas encontradas en ratones extremadamente obesos dieron lugar a experimentos innovadores de parabiosis en los que se anastomosaron quirúrgicamente los sistemas circulatorios de estos ratones obesos y sus controles de jaula normales, lo que dio como resultado una drástica disminución del peso corporal de los ratones obesos mutantes espontáneos; de este modo se sentaron las bases y la predicción de un sistema regulador entre el tejido adiposo y el cerebro, que culminó muchos años después en la clonación del gen *ob*, de su receptor *LepR* y la caracterización de su producto, la leptina^{70-72,105,106}. Una de las funciones de la leptina es comunicar al cerebro información sobre los depósitos de energía a largo plazo. Cuando esta hormona alcanza el hipotálamo, desencadena una serie de respuestas neuroendocrinas sobre las neuronas anabólicas NPY y AGRP y las neuronas catabólicas que contienen la proopiomelanocortina (POMC), que son objetivos directos de las acciones de la leptina^{107,108}.

Los genes responsables de las causas monofactoriales de la obesidad se pueden dividir en 2 categorías. La primera incluye los genes que codifican la leptina, el receptor de leptina y la POMC. Las mutaciones en estos genes incluyen formas recesivas y muy raras de obesidad asociadas a disfunciones endocrinas múltiples. Ha podido identificarse una mutación homocigótica en el gen de la leptina que involucra la pérdida de un nucleótido de guanina simple en el codón 133 en 2 niños extremadamente obesos emparentados entre sí (primos) y en otro niño del sexo masculino sin parentesco con los 2 anteriores, todos ellos de origen pakistaní. La mutación dio lugar a una pérdida total de la función del gen, lo que produjo un fenotipo similar caracterizado por obesidad mórbida de inicio en la primera semana de vida, incremento sustancial del apetito, hiperfagia, hipotiroidismo central e hipogonadismo hipogonadotrópico. Los parientes heterocigotos de estos niños presentaron concentraciones de leptina inferiores a las normales, una prevalencia de obesidad mayor de la esperada y un mayor porcentaje de grasa corporal en comparación con controles equiparados en edad y etnia. Otra mutación homocigótica en el codón 105 se encontró en 3 adultos y un niño de elevada consanguinidad, valores que presentaban un fenotipo clínico consistente en un inicio temprano de obesidad mórbida, hiperfagia, concentraciones de leptina extremadamente disminuidas e hipogonadismo hipogonadotrópico¹⁰⁹⁻¹¹⁴. También se pudo comprobar que la administración subcutánea de leptina pudo revertir la mayoría de las anomalías fenotípicas asociadas a la deficiencia congénita de leptina humana^{115,116}. Solamente se ha identificado a 3 individuos de una familia con la mutación homocigótica del receptor de leptina; dichos individuos presentaban una sustitución G-T en el exón 16. Dicho receptor se encuentra truncado en la parte anterior a la membrana transdominio, situación que

anula por completo la señalización de la leptina al interior del hipotálamo. Los portadores homocigotos presentan un fenotipo similar a sus homólogos que presentan deficiencia a la leptina congénita caracterizada por obesidad extrema y disfunción hipofisaria. Estos individuos obesos portadores de la mutación en el receptor de leptina presentan valores muy elevados de leptina, al igual que sus parientes sanos heterocigotos. Una diferencia notable entre los pacientes con mutaciones en el gen de la leptina y los que presentan mutaciones en el receptor es que estos últimos presentan un retraso del crecimiento significativo e hipopituitarismo hipotalámico¹¹⁷.

El papel relevante del sistema de la melanocortina en el control del peso corporal en humanos se corrobora por el descubrimiento de mutaciones en el gen POMC¹¹⁸, que también da como resultado obesidad extrema. Este gen se expresa en el cerebro, intestino, placenta y páncreas en los seres humanos. La POMC es el precursor en la producción de varias hormonas del eje hipotálamo-pituitario-adrenal, entre las que destacan la hormona estimulante de los melanocitos-α (α -MSH), la hormona adrenocorticotrópica y la betaendorfina. Estos neuropéptidos derivados de POMC son ligandos fisiológicos del receptor MC4R. La producción de α -MSH se encuentra bajo la influencia de la leptina, y la señal generada por este neurotransmisor en el receptor MC4R causa catabolia y disminución del apetito¹¹⁹⁻¹²². Se han detectado mutaciones homocigóticas o heterocigóticas compuestas en el gen POMC con pérdida de la función en niños con obesidad extrema de inicio temprano, insuficiencia adrenal y pigmentación roja del cabello como reflejo de la carencia de neuropéptidos hipofisarios que actúan como ligandos para los receptores MC4R, MC1R y MC2R, respectivamente^{123,124}.

La segunda categoría de formas monogénicas de obesidad pertenece a formas no sindrómicas de obesidad relacionadas con numerosas mutaciones en el gen del receptor 4 de melanocortina MC4R¹²⁵. Investigadores franceses¹²⁶, ingleses¹²⁷, italianos¹²⁸, japoneses¹²⁹ y españoles¹³⁰ han descrito más de 30 mutaciones diferentes del receptor MC4R. El fenotipo endocrinológico y metabólico presenta en general obesidad de moderada a grave, alteraciones escasas o poco significativas del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y funciones neuroendocrinas normales con respecto al crecimiento, la reproducción y la función tiroidea. Cuando se analizan estas mutaciones indican haploinsuficiencia, en vez de un mecanismo dominante negativo. A diferencia de las mutaciones encontradas en el gen de la leptina, su receptor LepR o POMC, la frecuencia de las mutaciones del receptor MC4R varía del 1 al 5% en diferentes poblaciones y en sujetos con un IMC^{64,125} mayor que 40, aunque otros grupos han descrito estimaciones del 0,5%¹³¹. En un estudio reciente que incluyó a 500 niños con obesidad extrema, 29 presentaron mutaciones en el gen de MC4R. Los niños homocigotos para las mutaciones presentaron un IMC mayor que los heterocigotos de características similares. Los sujetos heterocigotos portadores de una pérdida total de la función del MC4R presentaron un IMC mayor que los heterocigotos que conservaban señalizaciones parciales de dicho receptor. También se pudo determinar que las propiedades de señalización del receptor mutante, determinadas en cultivos celulares, se correlacionaron con la gravedad de la obesidad.

Estos hallazgos demuestran que la obesidad secundaria a mutaciones del MC4R se asocia a una herencia codominante y tiene una mayor semejanza con la obesidad poligénica común que los otros trastornos genéticos monogénicos, pero con una edad de inicio mucho más temprana y una tendencia a la hiperfagia en la infancia, que tiende a desa-

parecer hacia la edad adulta. También se ha planteado que la señalización alterada del receptor mutante MC4R podría estar involucrada en la aparición de hiperinsulinemia, lo que hace que se considere al receptor MC4R un gen «ahorador» a través de su acción promotora del gasto energético y un excelente objetivo para el desarrollo de fármacos en el tratamiento del síndrome metabólico¹³²⁻¹³⁵.

Obesidad poligénica común en humanos

La investigación genética actual esencialmente cuenta con la secuenciación completa del genoma humano para aplicar poderosos enfoques en la identificación de los genes causales de esta enfermedad. Con la premisa de que la obesidad es un complejo fenotipo multifactorial cuyas variantes individuales para tales fenotipos resultan de la acción de múltiples genes con factores del medio ambiente. El estudio de los genes de la obesidad humana común, como se ha mencionado anteriormente, se engloba en 2 amplias categorías que incluyen el enfoque del gen candidato único y el escaneo genómico amplio.

Los genes candidatos que se han estudiado extensamente incluyen los involucrados en la regulación del gasto energético –proteínas no acopladoras (UCP), el receptor nuclear proliferador de las peroxisomas gamma (PPAR γ), y el receptor adrenérgico β_3 -AR–, y los genes de la leptina y su receptor LepR¹³⁶. En la actualidad, se han descrito asociaciones positivas con fenotipos de obesidad para más de 70 genes¹⁰. En humanos, el β_3 -AR se expresa escasamente en el tejido adiposo y en los adipocitos que están alineados a lo largo del tracto gastrointestinal¹³⁷. Dos ejemplos de variantes en el enfoque del gen candidato se relacionan con una mutación Trp64Arg en el gen β_3 -AR¹³⁸ y otra variante común Pro12A1a donde la prolina cambia a alanina en el codón 12 de la isoforma $\gamma 2$ del gen del receptor activado del proliferador de peroxisomas PPAR- γ ¹³⁹. Se ha planteado que la variante Trp64Arg del β_3 -AR actúa como un modificador de otras variantes de genes candidatos influyendo en interacciones gen-gen que aumentan las probabilidades de un individuo de acumular más tejido adiposo si coexisten esta variante del receptor adrenérgico y otras ya identificadas, como la variante del gen del receptor α_2 b¹⁴⁰ y del gen de la isoforma PPAR $\gamma 2$, y el coactivador de PPAR γ , PPARGC1^{27,141}.

En adipocitos maduros del tejido adiposo pardo, la estimulación de los receptores betaadrenérgicos por noradrenalina activa las UCP-1 a través del adenosinmonofosfato cíclico. Las UCP son transportadores de la membrana interna mitocondrial, disipan el gradiente de protones y de esta manera liberan la energía almacenada en forma de calor¹⁴². Una variación en UCP-1 en la posición -3826AG se asoció a ganancia de masa grasa en el estudio familiar de Quebec¹⁴³. Efectos adicionales entre el alelo -3826AG con la mutación Trp64Arg del receptor β_3 -AR se encontraron en una población francesa de obesos mórbidos¹⁴⁴. Efectos sinérgicos entre el mismo alelo de la UCP y la mutación del receptor adrenérgico que disminuye la actividad del sistema nervioso simpático y afecta a la concentración sérica de lípidos se observaron en japoneses, así como polimorfismos en UCP-2 y 3 en indios pima, asociados a variaciones del metabolismo energético¹⁴⁵⁻¹⁴⁷. La mutación Trp64Arg se ha correlacionado con obesidad, ganancia de peso y resistencia a la insulina en indios pima, franceses y finlandeses¹⁴⁸⁻¹⁵⁰. Se han publicado asimismo estudios discordantes sobre el tema, con resultados variables, lo que ilustra lo incierto y la complejidad del enfoque del gen candidato único, como en el estudio familiar de Quebec y el Estudio Sueco de Obesos (SOS)¹⁵¹.

Parece ser que el papel del gen candidato en la obesidad humana es muy incierto y es necesario investigarlo más a fondo. Entre las posibles razones para no poder reproducir los resultados, se incluyen la mezcla y la estratificación de la población estudiada¹⁵², el tamaño muy pequeño de las muestras con bajo poder estadístico, los diferentes grupos de genes que operan en diferentes poblaciones, el desequilibrio de vínculo variable entre la población¹⁵³, o la baja probabilidad de que los genes en cuestión estén involucrados en el riesgo general del desarrollo de la enfermedad¹⁵⁴. Para poder obtener resultados fiables se ha propuesto que el tamaño de la muestra estudiada sea muy amplio, que el diseño incluya casos y controles en estudios de asociaciones basados en familias y que los hallazgos del estudio se confirmen en otros grupos de origen étnico similar. También es importante escoger al gen candidato ideal basándose en algunos criterios que incluyan, entre otros, que su localización cromosómica esté muy cercana a un *locus* vinculado con la obesidad en modelos humanos o animales, que se pueda efectuar su perfil de expresión en, por ejemplo, el adipocito, músculo o hipotálamo en respuesta a modificaciones del medio ambiente, y que se pueda regular su expresión por la ingesta de alimentos o por actividad física, que se pueda manipular su sobreexpresión o interrupción (*knockout*) para manipular el peso corporal en modelos animales. Los genes candidatos únicos seleccionados para cribado en amplias poblaciones deberían cumplir al menos 2 de estos criterios¹⁵⁵⁻¹⁵⁷.

Todos los diseños de investigación utilizados en escaneos amplios del genoma implican el uso de polimorfismos genéticos que se encuentran distribuidos equitativamente a través del genoma. El tipo de polimorfismo más comúnmente utilizado es el de marcadores microsatélites, por su alta heterogeneidad y el contenido informativo que posee. Debido a la relativa facilidad de reclutamiento de participantes, los diseños de la mayoría de los estudios han seguido comúnmente el patrón de integrar a individuos no emparentados entre sí y parientes apareados. El reclutamiento de grandes núcleos familiares emparentados entre sí parece ser la elección ideal, pero requiere mucho más esfuerzo y dedicación. Este diseño incorpora a grandes familias y árboles genealógicos de varias generaciones de extensión que incluye a familiares de segundo y tercer grados, en los que se efectúan análisis de vínculo a marcadores idénticos heredados por descendencia con el fenotipo en cuestión^{10,158,159}. Se puede esperar que, con un estudio diseñado apropiadamente y una muestra familiar de tamaño adecuado, genes individuales que contribuyen con un porcentaje tan pequeño como el 10% de la variancia en un rasgo puedan localizarse en regiones cromosómicas específicas utilizando este enfoque de escaneo genómico amplio¹⁶⁰.

Desde la publicación del primer escaneo genómico que comunicó fenotipos relacionados con la obesidad en humanos hace poco más de 6 años, una gran cantidad de estudios ha reportado vínculos altamente significativos, y es muy relevante que varios de estos hallazgos de vínculos se han reproducido. La evidencia más contundente para un QTL que ejerce influencia en los fenotipos relacionados con la obesidad en humanos proviene del San Antonio Family Heart Study (SAFHS), basado en 5.667 individuos integrados en familias mexicano-estadounidenses que viven en esa ciudad de EE.UU., con una puntuación para la probabilidad logarítmica (*log odds ratio* o *LOD score*, que es altamente significativa cuando es mayor de 3) de 7,5 para valores séricos de leptina en el cromosoma 2p22, utilizando el enfoque de vínculos del componente de la variancia^{46,161}. Este QTL se ha reproducido en poblaciones francesas (*LOD* = 2,4-2,7) y afroamericanas^{162,163}. También se han podido determinar en

el SAFHS vínculos significativos en el cromosoma 8 con la leptina (LOD = 3,1) y el IMC (LOD = 3,2), así como en el cromosoma 17 para el IMC (LOD = 3,2)¹⁶⁴⁻¹⁶⁶. El QTL del cromosoma 2 se localiza muy cerca del *locus* del gen de POMC, lo que lo convierte en un fuerte candidato genético para la obesidad. En sujetos de raza blanca, la región del cromosoma 2 ha arrojado vínculos prometedores con los valores circulantes de adiponectina, una proteína derivada de los adipocitos que se expresa inversamente a las concentraciones de grasa corporal total y se piensa que tiene un papel preponderante en el riesgo de desarrollo de diabetes tipo 2 y enfermedad arterial coronaria¹⁶⁷⁻¹⁶⁹. También se ha descrito evidencia que vincula esta región cromosómica con diabetes en familias francesas (LOD = 2,3). Esta evidencia podría indicar que los mismos genes quizás contribuyan con efectos pleiotrópicos para la diabetes y la obesidad¹⁷⁰. Hasta la fecha, se han publicado hallazgos para QTL en los *locus* de los cromosomas 1q21-q24, 2q24, 2q37, 3p21-p24, 3q27, 5q13, 5q31-q33, 6q22-q23, 7p15, 8p21-p22, 9p13-q21, 10q22-q26, 11q21-q24, 12q24, 15q13-q21, 17p11-p12, 18p11 y 20q11-q13^{10,52,157}. La identificación de estas regiones en el genoma comienza a demostrar evidencia consistente para vínculos con la diabetes tipo 2¹⁷¹ y la obesidad. Es muy notable que 3 de estas regiones genómicas (3p, 15p y 20q) demuestran un vínculo consistente y sólido para la diabetes tipo 2 y la obesidad, lo que induce a pensar en una arquitectura genética causal común de fondo compatible con las observaciones epidemiológicas relacionadas con la constelación de alteraciones metabólicas que ocurren simultáneamente en individuos que padecen estas enfermedades^{52,158}. Varios genes candidatos potenciales se han identificado en estas 3 regiones. Los más relevantes son el gen de APM1, que codifica la adiponectina, el gen del transportador de la glucosa GLUT2, el gen de ApoD, que es parte integral de la lipoproteína de alta densidad en el cromosoma 3; el gen del receptor del factor de crecimiento semejante a la insulina 1 en el cromosoma 15; en cromosoma 20, los genes *agouti-signalling protein* (ASIP), un potente inhibidor de MC3R y MC4R, el gen GNAS1, cuyas variantes se han asociado a osteodistrofia hereditaria de Albright, y el gen CEBPB (CAAT/enhancer-binding-protein beta) que tiene un papel significativo en la diferenciación del adipocito⁸. Un hallazgo reciente significativo de escaneo genómico para obesidad se obtuvo de más de 10.000 individuos. Los autores encontraron un *locus* en el cromosoma 4p15-p14, con un LOD de 3,7-11,3, que tiene un vínculo significativo con un fenotipo de obesidad extrema en mujeres. Las variantes genéticas con la región vinculada no se han descrito todavía¹⁷².

Enfoques ultramodernos y de tecnología avanzada para la identificación de genes de la obesidad y la diabetes tipo 2: los genes *tanis* y *beacon*

La utilización de polimorfismos de nucleótidos únicos (*single nucleotide polymorphisms*, SNP) ha despertado un gran interés en fechas recientes y está suscitando gran atención en estudios genéticos. Los SNP pueden ser una mutación funcional o estar en desequilibrio de vínculo con una variante funcional. Los SNP son el tipo de variación más abundante en el genoma humano, aparecen en promedio una vez cada 1,3 kb en el genoma, y son variantes comunes usualmente bialélicas. Al ser más comunes, disminuyen la amplitud de la región objetivo para la búsqueda de genes¹⁷³. Los estudios tradicionales de vínculo generalmente identifican regiones genómicas relativamente largas de 10-30 cM, por lo que se necesitan esfuerzos exhaustivos de mapeo

fino para circunscribir con precisión un QTL a una región genómica más pequeña de menos de 1 cM¹⁷⁴.

El mapeo que utiliza el desequilibrio de vínculo se ha propuesto recientemente como más eficiente que el tradicional análisis de vínculo para la detección de regiones genómicas más precisas involucradas en la aparición de enfermedades complejas como la obesidad, a través del desarrollo de varios enfoques de escaneo genómico amplio con desequilibrio de vínculo para el mapeo de genes pertinentes¹⁷⁵. En teoría, se asume que un nivel útil de desequilibrio de vínculo está confinado a una distancia promedio menor a 3 kb en la población general, situación que implica que se requieren aproximadamente 500.000 SNP para un estudio genómico de desequilibrio de vínculo¹⁷⁶. Más aún, otros investigadores han planteado que este número podría reducirse a 30.000 SNP, lo que convertiría al escaneo genómico a base de SNP en la tecnología de tarjetas o chips más accesible y práctica¹⁷⁷. Una parte importante del interés por este enfoque deriva de la evidencia que parece indicar que estos SNP se «acomodan» en bloques de desequilibrio de vínculo o asociación alélica, por lo que la genotipificación de un simple SNP también parece revelar la genotipificación de otro SNP cercano. Esta situación es indicativa de que se puede identificar un bloque de haplotipos en un tramo extenso del genoma, con la genotipificación de varios SNP informativos «claves», situación altamente atractiva sobre todo al haberse ya identificado bloques de haplotipos en el genoma humano. Este enfoque parece representar un camino más accesible en la identificación de variaciones genéticas causantes al genotipificar una selección de SNP equitativamente espaciados, confiando en el desequilibrio de vínculo entre el marcador tipificado y la variante de la enfermedad. Por lo tanto, una vez que los genes candidatos se han identificado en el escaneo genómico amplio, y se ha efectuado el subsecuente mapeo fino de los QTL, el escrutinio de los SNP en estos genes nos conducirá finalmente a la identificación de aquellas variantes que contribuyen al desarrollo de la enfermedad compleja^{178,179}.

Ya se ha iniciado la construcción de estos bloques de desequilibrio de vínculo para generar un mapa genómico amplio de haplotipos. Con la obtención de dicho mapa sólo se requerirán unos cuantos SNP clave para identificar los haplotipos y, al combinarse con técnicas de asociación en estudios basados en poblaciones, se acelerará definitivamente la identificación de genes causantes de enfermedades¹⁸⁰. La elaboración del mapa del genoma humano, la construcción del mapa de SNP, también denominado «HapMap», y la caracterización de los patrones de desequilibrio de vínculo en poblaciones humanas han dado sus primeros frutos, y el ejemplo más claro ha sido la identificación de un gen susceptible para la diabetes tipo 2 en mexicano-estadounidenses y una población finlandesa del norte de Europa, denominado *NIDDM1*, que está localizado en el cromosoma 2, y que codifica la expresión de una proteína miembro de la familia de las proteasas de cisteína semejantes a calpaína, denominada calpaína 10¹⁸¹. Sin embargo, se ha podido observar que el grado y la extensión del desequilibrio de vínculo varían enormemente a lo largo del genoma y son altamente impredecibles, lo que implica que una variación causante de enfermedad podría estar yuxtapuesta a un marcador genotipificado, pero podría también estar en equilibrio y pasar inadvertida. Existe por otra parte la posibilidad de que los bloques de haplotipos puedan provocar que la identificación de variantes causales verdaderas sea más difícil debido al efecto subyacente del haplotipo^{182,183}. Esto ha provocado un intenso debate entre expertos en este novedoso campo de localización genómica avanzada que pre-

tende detectar de manera expedita genes candidatos para enfermedades complejas como la obesidad¹⁸⁴. Un enfoque avanzado estriba en utilizar métodos basados en el estudio del ARN a través de la expresión genética de muestras de tejidos que definitivamente reflejan la influencia de estos genes, al compararlos en estados de normalidad o de enfermedad, en el desarrollo de las enfermedades complejas comunes. Una amplia variedad de tecnologías basadas en el ARN pueden utilizarse para identificar cambios en la expresión genética en varios tejidos en la obesidad y la diabetes tipo 2¹⁸⁵. Las técnicas más sólidas comprenden el desplegado diferencial de la reacción en cadena de la polimerasa (*differential display PCR*, o ddPCR), los análisis de diferencia de representación (*representational difference analysis*), la sustracción de hibridización selectiva (*selective subtraction hybridisation*) y los microordenamientos de ADNc (*cDNA microarrays*). El enfoque ideal se dirige a utilizar tejidos humanos en estudios de expresión, pero por razones obvias relacionadas con la ética y derivadas de la dificultad o el riesgo intrínseco que implica biopsiar los tejidos pertinentes, se utilizan modelos animales que reflejan el trastorno humano en investigación^{52,186}.

Un modelo exquisito para el estudio de la obesidad y la diabetes es la rata del desierto israelí *Psammomys obesus*. Estos animales son nativos del norte de África y de Oriente Próximo y en estado salvaje son delgados y normoglucémicos. Al ponerlos en cautiverio y alimentarlos con dietas convencionales para roedores, el 50% de los adultos de 16 semanas aproximadamente desarrollan obesidad y el 30% desarrolla diabetes tipo 2¹⁸⁷. Utilizando técnicas de ARN ddPCR en este modelo animal, se ha podido descubrir un nuevo gen que parece ser clave en la fisiopatología de la diabetes tipo 2. El gen fue bautizado como *tanis*, que en hebreo significa ayuno. Su expresión primaria es hepática y se incrementa notablemente después de dejar a las ratas del desierto diabéticas en ayuno absoluto. Se ha obtenido la secuencia completa del ARNm de *tanis* en el *P. obesus* y consiste en 1.155 bases pareadas, y la codificación de su producto proteico contiene 189 aminoácidos. El gen humano correspondiente se localiza en el cromosoma 15q26.3, y la vaticinada proteína *tanis* humana se estima en 187 aminoácidos de longitud y parece tener un peso molecular de 21 kDa. La expresión hepática del gen *tanis* en respuesta a un ayuno de 24 h en *P. obesus* con diabetes tipo 2 presentó un incremento 3 veces mayor que en los animales del grupo control no diabéticos. Análisis de regresión lineal múltiple demostraron que solamente las concentraciones sanguíneas de glucosa se asociaron independientemente con la expresión genética de *tanis*. Asimismo, se pudo demostrar que la expresión hepática del gen *tanis* se encuentra significativamente reducida en *P. obesus* diabéticos tipo 2, cuando se compara con sus pares de jaula sanos y delgados. Al analizarlos en conjunto, estos resultados ofrecen una evidencia clara de que la glucosa es el regulador clave de la expresión genética de *tanis* en el hígado, y que este gen se expresa diferencialmente de forma diferente en la diabetes tipo 2. Un dato muy interesante es la fuerte interacción de *tanis* con el reactante hepático proteico de fase aguda amiloide sérico A (SAA). Parece ser que *tanis* posee propiedades de receptor, por el que se une a la proteína inflamatoria SAA. Esta y otras proteínas de fase aguda han sido foco de atención reciente como marcadores de riesgo para la enfermedad cardiovascular. Los autores de las investigaciones aseveran que la interacción de *tanis* y la proteína de fase aguda SAA induce a pensar en un vínculo mecánico entre la diabetes tipo 2, la obesidad, la inflamación y las enfermedades cardiovasculares^{188,189}.

El avance en las técnicas moleculares y la incorporación del conocimiento genómico combinándolo con la genética epidemiológica y la bioinformática han dejado entrever que los métodos basados en el ADN y ARN no son todo lo precisos que se necesita para identificar genes candidatos para enfermedades complejas. Los escaneos genómicos amplios identifican regiones extensas de ADN que pueden contener cientos e incluso miles de genes. La identificación y el mapeo fino para disminuir las distancias e identificar genes candidatos con esta técnica son muy laboriosos, costosos y consumen demasiado tiempo. Por otra parte, el método basado en el ARN como el ddPCR, la sustracción de hibridación selectiva y los microordenamientos de cDNA identifican cientos de genes potenciales. Determinar qué genes son importantes para el desarrollo de la enfermedad en cuestión requiere efectuar exámenes funcionales detallados. Esta situación ha dado lugar a que en fechas muy recientes se haya combinado el método de expresión diferencial genética con los datos obtenidos de escaneos genómicos amplios, y se ha logrado obtener un nivel sustancial sinérgico para identificar genes candidatos. Un ejemplo del éxito de este enfoque combinado ha sido el reciente descubrimiento de *beacon*, una nueva proteína que parece tener un papel preponderante en la regulación del balance energético. Esta proteína se expresa de forma diferente en el hipotálamo de *P. obesus* delgados y obesos. Su secuenciación reveló un ARNm de 413 pb que codifica esta nueva proteína de 73 aminoácidos y un tamaño predictivo de 8,6 kDa. Se ha confirmado su expresión muy elevada en el hipotálamo de *P. obesus* e identificado una relación lineal entre la expresión genética de *beacon*, el peso corporal y el porcentaje de grasa corporal¹⁹⁰.

Beacon se expresa predominantemente en el núcleo retroquiasmático del hipotálamo, una región ampliamente conocida por su participación en la regulación de la ingesta de alimentos, a través de neuronas que expresan neuropéptidos orexigénicos y anorexigénicos como el neuropéptido Y, péptido relacionado con *agouti*, transcriptor regulador de cocaína-anfetamina, POMC, hormona estimulante de los melanocitos-alfa (α -MSH), entre otros. Existe la posibilidad de que *beacon* interactúe con estos sistemas anabólicos y catabólicos intrahipotalámicos que regulan el apetito y el balance energético¹⁹¹.

El homólogo humano de *beacon* se conoce como el gen semejante a ubiquitina 5 (*ubiquitin-like 5*) y se encuentra localizado en el cromosoma 19p13. Numerosos estudios han demostrado previamente un vínculo y/o asociación entre esta región genómica y rasgos relacionados con la obesidad, como las concentraciones plasmáticas de leptina y el contenido graso corporal. Asimismo, se han identificado QTL relacionados con la obesidad en genomas de ratas y ratones en regiones compatibles con el cromosoma humano 19p13^{192,193}. La variación genética en esta región donde se encuentra localizado *beacon* parece indicar que afecta significativamente a los valores circulantes de leptina y la masa grasa corporal. Asimismo, parece ser evidente que uno o varios genes localizados en el cromosoma 19p13 se encuentran involucrados en el control del tejido adiposo corporal. *Beacon* es un excelente gen candidato para la obesidad debido a la combinación de los interesantes datos iniciales en su expresión y su localización genómica en una región cromosómica identificada plenamente por sus vínculos y asociaciones a fenotipos relacionados con la obesidad. Estudios recientes parecen indicar que la expresión genética de *beacon* se eleva en el hipotálamo de *P. obesus* antes del incremento de peso corporal, cuando tienen la predisposición genética a desarrollar diabetes tipo 2 y obesidad.

Parece ser que esta elevación temprana pudiera ser un marcador inicial de defectos metabólicos que predisponen al desarrollo de ambas afecciones¹⁹⁴.

Conclusiones

Se ha estimado que cerca de 250 millones de personas en todo el mundo presentan exceso de peso (el 7% de la población)¹⁻³. Por eso, la enfermedad crónica denominada obesidad representa la amenaza más importante a los sistemas de salud pública en países desarrollados y en vías de desarrollo, ya que su característica principal estriba en que se considera el principal generador primario de importantes riesgos asociados, muy prevalentes, como son la diabetes tipo 2, las enfermedades cardiovasculares, los accidentes cerebrovasculares y ciertos tipos de cáncer. Desafortunadamente, se acepta que los enfoques terapéuticos y preventivos para tratar esta enfermedad presentan el gran inconveniente de desconocer los mecanismos moleculares y bioquímicos íntimos que regulan la homeostasis energética y el metabolismo del tejido adiposo, así como las alteraciones de dicho control que predisponen a su génesis. Dentro de este frustrante panorama, resulta halagüeño que esta extensa revisión nos haga notar que los impresionantes avances en el área de la genética enfocada a descubrir posiciones cromosómicas y genes candidatos que influyen en el desarrollo de la obesidad han progresado muchísimo y nos auguran un futuro verdaderamente prometedor.

Aunque estos avances recientes han resaltado la importante contribución de los factores genéticos a la hora de determinar la susceptibilidad individual para el desarrollo de la obesidad, es obvio que su alta prevalencia no puede atribuirse a un cambio drástico en nuestros genes en las últimas décadas. Parece ser que la epidemia de la obesidad debe considerarse como una respuesta secundaria a un medio ambiente «obesogénico». Es prudente aceptar que el conocimiento genético actual sea quizás sólo una pequeña parte del rompecabezas completo. Sin embargo, parece bastante claro que el éxito en los esfuerzos por identificar genes específicos que afectan a la expresión de los fenotipos característicos de la obesidad es posible en la actualidad, si se aplican las herramientas analíticas adecuadas y se integra una base de datos amplia e informativa. Es indudable que los expertos en genética han sido pioneros a la hora de sentar las bases para comprender los mecanismos moleculares de la obesidad humana a través del descubrimiento de los primeros defectos monogénicos que dan lugar a obesidad infantil extrema, al describir 3 hallazgos claves consistentes en: a) mutaciones raras en el gen de la leptina y su receptor; b) en el gen de la POMC, y c) mutaciones en el receptor de melanocortina MC4R que representan del 1 al 4% de casos en niños con obesidad extrema.

Sin embargo, la realidad nos obliga a aceptar que las formas más comunes de la obesidad son poligénicas. Desde el punto de vista genético, la obesidad representa un complejo fenómeno biológico. Quizás el aspecto más contundente de esta revisión es el hecho de poder establecer los fundamentos para diferenciar la percepción de la obesidad desde su definición clínica (que pretende elevarla a la consideración de una enfermedad), de su perspectiva genética. La comprensión de esta diferenciación es difícil, ya que su interpretación clínica y genética se encuentra fuertemente imbricada. Sin embargo, es posible efectuar una sutil disección del concepto, partiendo del hecho de que para poder investigar sus bases genéticas efectuando análisis de vínculos es necesaria una definición muy clara de sus fenotipos. En efecto, parece posible entender el concepto al explicar que los

rasgos medibles o fenotipos se consideran discretos si se basan en valores secundarios a un punto de corte que implica un umbral de valores que dan lugar al diagnóstico de la enfermedad en cuestión. El criterio diagnóstico para la diabetes tipo 2 se establece a través de valores de glucosa en ayunas superiores a 126 mg/dl en 2 ocasiones separadas. Desde el punto de vista clínico, este punto de corte es el parámetro principal para iniciar el tratamiento y prevenir complicaciones futuras, pero no necesariamente se relaciona con su arquitectura genética subyacente, ya que sería muy difícil considerar que un individuo con 110 mg/dl de glucemia en ayunas, sólo por el hecho de sus cifras de glucosa, no sea portador de los alelos de la enfermedad. Por esta razón, para el estudio de las enfermedades complejas comunes, la utilización de rasgos cuantitativos con mediciones continuas subyacentes, como serían los valores plasmáticos de glucosa, evita este tipo de problemas y dirige el análisis genético a niveles muy cercanos al rasgo fenotípico. Los componentes de la variancia basados en análisis estadísticos complejos se han desarrollado para acomodar mediciones cuantitativas en árboles genealógicos extensos y multigeneracionales de tamaño y complejidad arbitrarios. Este enfoque ha proporcionado un gran poder estadístico para detectar genes que influyen en la aparición de rasgos cuantitativos cuando se lo compara con la utilización de rasgos discretos. Los resultados de este tipo de análisis genético indican que la tarea de analizar la contribución genética relevante de la obesidad es bastante accesible, como lo demuestra el patrón consistente de regiones cromosómicas con efectos significativos sobre los fenotipos más comunes de la obesidad (leptina, IMC, etc.), que empiezan a mostrar una evidencia consistente de vínculo, especialmente los QTL encontrados en los cromosomas 3p, 15q y 20q en diferentes poblaciones y grupos étnicos, con sus respectivos genes candidatos que codifican productos de expresión proteica, descritos anteriormente. Este patrón coherente de hallazgos adquiere un significado con importantes implicaciones de salud pública porque implica la existencia de un número discreto de genes específicos cuyas variaciones ejercen una fuerte influencia en el desarrollo de la obesidad, con efectos comunes en la población en general. Finalmente, la tecnología más avanzada, que integra el uso de perfiles de expresión y la localización genómica, parece dirigirse a la identificación de genes candidatos para el desarrollo de enfermedades complejas, comunes y poligénicas como la obesidad y la diabetes tipo 2. Un ejemplo es el descubrimiento de los genes *tanis* y *beacon* al combinar datos del transcriptoma y del genoma. Se puede anticipar que la incorporación de datos proteómicos en este modelo incrementará el poder para descubrir nuevos genes.

Agradecimiento

Queremos dar las gracias a los Dres. Jack Kent Jr, Guowen Cai y Elizabeth Tejero por su apoyo e ideas para la elaboración de este manuscrito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pastor P, Makuk DM, Reuben C, Xia H. *Chartbook on trends in the health of Americans. Health, United States, 2002*. Hyattsville National Center for Health Statistics, 2002.
2. International Obesity Task Force 2003. Disponible en: <http://www.obesity.chaire.ulaval.ca/iotf.htm>

3. Seidell JC. Prevalence and time trend of obesity in Europe. *J Endocrinol* 2002;25:816-22.
4. Popkin BM, Lu B, Zhai F. Understanding the nutrition transition: measuring rapid dietary changes in transitional countries. *Public Health Nutr* 2002;5(Suppl 6A):947-53.
5. Caballero B. Introduction. Symposium: Obesity in developing countries: biological and ecological factors. *J Nutr* 2001;131:866S-70S.
6. Comuzzie AG, Williams JT, Martin LJ, Blangero J. Searching for genes underlying normal variation in human adiposity. *J Mol Med* 2001;79:57-70.
7. French SA, Story M, Jeffery RW. Environmental influences on eating and physical activity. *Annu Rev Public Health* 2001;22:309-35.
8. Loos RJ, Bouchard C. Obesity – is it a genetic disorder? *J Intern Med* 2003;54:401-25.
9. Comuzzie AG, Allison DB. The search for human obesity genes. *Science* 1998;280:1374-7.
10. Chagnon YC, Rankinen T, Snyder EE, Weisnagel SJ, Perusse L, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2002 update. *Obes Res* 2003;11:313-67.
11. Lindsay RS, Bennett PH. Type 2 diabetes, the thrifty phenotype – an overview. *Br Med Bull* 2001;60:21-32.
12. Zhao Z, Fu YX, Hewett-Emmett D, Boerwinkle E. Investigating single nucleotide polymorphism (SNP) density in the human genome and its implications for molecular evolution. *Gene* 2003;312:207-13.
13. Kawaga Y, Yanagisawa Y, Hasegawa K, Suzuki H, Yasuda K, Kudo H, et al. Single nucleotide polymorphisms of thrifty genes for energy metabolism: evolutionary origins and prospects for intervention to prevent obesity-related diseases. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;295:207-22.
14. Bauman WA. Hibernation: a model of adaptive hyperlipogenesis and associated metabolic features. En: Björntorp P, Brodoff B, editors. *Obesity*. Philadelphia: JB Lippincott, 1992; p. 206-19.
15. Pond CM. An evolutionary and functional view of mammalian adipose tissue. *Proc Nutr Soc* 1992;51:367-77.
16. Cinti S. The adipose organ: morphological perspectives of adipose tissues. *Proc Nutr Soc* 2001;60:319-28.
17. Kawada T, Takahashi N, Fushiki T. Biochemical and physiological characteristics of fat cell. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2001;47:1-12.
18. Neel JV. Diabetes mellitus: a «thrifty» genotype rendered detrimental by «progress»? *Bull World Health Organ* 1999;77:694-703 [discussion, 692-3].
19. Neel JV. The «thrifty genotype» in 1998. *Nutr Rev* 1999;57:S2-S9.
20. Rolls BJ, Hammer VA. Fat, carbohydrate, and the regulation of energy intake. *Am J Clin Nutr* 1995;62:1086S-95S.
21. Stubbs RJ, Mazlan N, Whybrow S. Carbohydrates, appetite and feeding behavior in humans. *J Nutr* 2001;131:2775S-81S.
22. Lieberman LS. Dietary, evolutionary, and modernizing influences on the prevalence of type 2 diabetes. *Annu Rev Nutr* 2003;23:345-77.
23. Myslobodsky M. Gourmand savants and environmental determinants of obesity. *Obes Rev* 2003;4:121-8.
24. Poston WS II, Foreyt JP. Obesity is an environmental issue. *Atherosclerosis* 1999;146:201-9.
25. Clement K, Boutin P, Froguel P. Genetics of obesity. *Am J Pharmacogenomics* 2002;2:177-87.
26. Arner P. Obesity—a genetic disease of adipose tissue? *Br J Nutr* 2000;83(Suppl 1):9-16.
27. Shuldtiner AR, Munir KM. Genetics of obesity: more complicated than initially thought. *Lipids* 2003;38:97-101.
28. Liu YJ, Araujo S, Recker RR, Deng HW. Molecular and genetic mechanisms of obesity: implications for future management. *Curr Mol Med* 2003;3:325-40.
29. Stunkard AJ, Sorensen TI, Hanis C, Teasdale TW, Chakraborty R, Schull WJ, et al. An adoption study of human obesity. *N Engl J Med* 1986;314:193-8.
30. Fabsitz RR, Carmelli D, Hewitt JK. Evidence for independent genetic influences on obesity in middle age. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1992;16:657-66.
31. Comuzzie AG, Blangero J, Mahaney MC, Haffner SM, Mitchell BD, Stern MP, et al. Genetic and environmental correlations among hormone levels and measures of body fat accumulation and topography. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:597-600.
32. Kaprio J, Eriksson J, Lehtovirta M, Koskenvuo M, Tuomilehto J. Heritability of leptin levels and the shared genetic effects on body mass index and leptin in adult Finnish twins. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001;25:132-7.
33. Schousboe K, Willemsen G, Kyvik KO, Mortensen J, Boomsma DI, Corones BK, et al. Sex differences in heritability of BMI: a comparative study of results from twin studies in eight countries. *Twin Res* 2003;6:409-21.
34. Coady SA, Jaquish CE, Fabsitz RR, Larson MG, Cupples LA, Myers RH. Genetic variability of adult body mass index: a longitudinal assessment in Framingham families. *Obes Res* 2002;10:675-81.
35. Lee JH, Reed DR, Price RA. Familial risk ratios for extreme obesity: implications for mapping human obesity genes. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997;21:935-40.
36. Maes HH, Neale MC, Eaves LJ. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet* 1997;27:325-51.
37. Vogler GP, Sorensen TI, Stunkard AJ, Srinivasan MR, Rao DC. Influences of genes and shared family environment on adult body mass index assessed in an adoption study by a comprehensive path model. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995;19:40-5.
38. Borecki IB, Higgins M, Schreiner PJ, Arnett DK, Mayer-Davis E, Hunt SC, et al. Evidence for multiple determinants of the body mass index: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Obes Res* 1998;6:107-14.
39. Rice T, Perusse L, Bouchard C, Rao DC. Familial aggregation of body mass index and subcutaneous fat measures in the longitudinal Quebec family study. *Genet Epidemiol* 1999;16:316-34.
40. Hsueh WC, Mitchell BD, Schneider JL, St Jean PL, Pollin TI, Ehm MG, et al. Genome-wide scan of obesity in the Old Order Amish. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1199-205.
41. Comuzzie AG, Blangero J, Mahaney MC, Mitchell BD, Hixson JE, Samollow PB, et al. Major gene with sex-specific effects influences fat mass in Mexican Americans. *Genet Epidemiol* 1995;12:475-88.
42. Rose KM, Newman B, Mayer-Davis EJ, Selby JV. Genetic and behavioral determinants of waist-hip ratio and waist circumference in women twins. *Obes Res* 1998;6:383-92.
43. Nelson TL, Brandon DT, Wiggins SA, Whitfield KE. Genetic and environmental influences on body-fat measures among African-American twins. *Obes Res* 2002;10:733-9.
44. Nelson TL, Vogler GP, Pedersen NL, Miles TP. Genetic and environmental influences on waist-to-hip ratio and waist circumference in an older Swedish twin population. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23: 449-55.
45. Hunt MS, Katzmarzyk PT, Perusse L, Rice T, Rao DC, Bouchard C. Familial resemblance of 7-year changes in body mass and adiposity. *Obes Res* 2002;10:507-17.
46. Comuzzie AG, Hixson JE, Almasy L, Mitchell BD, Mahaney MC, Dyer TD, et al. A major quantitative trait locus determining serum leptin levels and fat mass is located on human chromosome 2. *Nat Genet* 1997;15:273-6.
47. Walder K, Hanson RL, Kobes S, Knowler WC, Ravussin E. An autosomal genomic scan for *loci* linked to plasma leptin concentration in Pima Indians. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:559-65.
48. Hixson JE, Almasy L, Cole S, Birnbaum S, Mitchell BD, Mahaney MC, et al. Normal variation in leptin levels is associated with polymorphisms in the proopiomelanocortin gene, POMC. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3187-91.
49. Pagani F, Buratti E, Stuani C, Baralle FE. Missense, nonsense, and neutral mutations define juxtaposed regulatory elements of splicing in cystic fibrosis transmembrane regulator exon 9. *J Biol Chem* 2003;278:26580-8.
50. Broeckel U, Schork NJ. Identifying genes and genetic variation underlying human diseases and complex phenotypes via recombination mapping. *J Physiol* 2004;1554(Pt 1):40-5.
51. Rankinen T, Perusse L, Weisnagel SJ, Snyder EE, Chagnon YC, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2001 update. *Obes Res* 2002;10:196-243.
52. Walder K, Segal D, Jewett J, Blangero J, Collier GR. Obesity and diabetes gene discovery approaches. *Curr Pharm Des* 2003;9:1357-72.
53. Rogers J, Mahaney MC, Almasy L, Comuzzie AG, Blangero J. Quantitative trait linkage mapping in anthropology. *Am J Phys Anthropol* 1999(Suppl 29):127-51.
54. McPherson JD, Marra M, Hillier L, Waterston RH, Chinwalla A, Wallis J, et al. A physical map of the human genome. *Nature* 2001;409:934-41.
55. Wilshire S, Cardon LR, McCarthy MI. Evaluating the results of genome-wide linkage scans of complex traits by *locus* counting. *Am J Hum Genet* 2002;71:1175-82.
56. Wille A, Leal SM. Novel selection criteria for genome scans of complex traits. *Genet Epidemiol* 2001;21(Suppl 1):800-4.
57. Blangero J, Almasy L. Multipoint oligogenic linkage analysis of quantitative traits. *Genet Epidemiol* 1997;14:959-64.
58. Blangero J, Williams JT, Almasy L. Robust LOD scores for variance component-based linkage analysis. *Genet Epidemiol* 2000;19(Suppl 1):8-14.
59. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291:1304-51.
60. Comuzzie AG. The emerging pattern of the genetic contribution to human obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002;16:611-21.
61. Brockmann GA, Bevova MR. Using mouse models to dissect the genetics of obesity. *Trends Genet* 2002;18:367-76.
62. Sorensen TI, Echwald SM. Obesity genes. *BMJ* 2001;322:630-1.
63. Robinson SW, Dinulescu DM, Cone RD. Genetic models of obesity and energy balance in the mouse. *Annu Rev Genet* 2000;34:687-745.
64. Barsh GS, Farooqi IS, O'Rahilly S. Genetics of body-weight regulation. *Nature* 2000;404:644-51.
65. Echwald SM. Genetics of human obesity: lessons from mouse models and candidate genes. *J Intern Med* 1999;245:653-66.
66. Miller MW, Duhl DM, Vrieling H, Cordes SP, Ollmann MM, Winkles BM, et al. Cloning of the mouse agouti gene predicts a secreted protein ubiquitously expressed in mice carrying the lethal yellow mutation. *Genes Dev* 1993;7:454-67.
67. Miller KA, Gunn TM, Carrasquillo MM, Lamoreux ML, Galbraith DB, Barsh GS. Genetic studies of the mouse mutations mahogany and mahanoid. *Genetics* 1997;146:1407-15.

68. He L, Eldridge AG, Jackson PK, Gunn TM, Barsh GS. Accessory proteins for melanocortin signaling: attractin and mahogunin. *Ann N Y Acad Sci* 2003;994:288-98.
69. Barsh GS, He L, Gunn TM. Genetic and biochemical studies of the Agouti-attractin system. *Recept Signal Transduct Res* 2002;22:63-77.
70. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-32.
71. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, et al. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 1996;84:491-5.
72. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995;83:1263-71.
73. Cawley NX, Rodríguez YM, Maldonado A, Loh YP. Trafficking of mutant carboxypeptidase E to secretory granules in a beta-cell line derived from Cpe(fat)/Cpe(fat) mice. *Endocrinology* 2003;144:292-8.
74. Jackson RS, Creemers JW, Farooqi IS, Raffin-Sanson ML, Varro A, Dockray GJ, et al. Small-intestinal dysfunction accompanies the complex endocrinopathy of human proprotein convertase 1 deficiency. *J Clin Invest*. 2003;112:1550-60.
75. Santagata S, Boggon TJ, Baird CL, Gómez CA, Zhao J, Shan WS, et al. G-protein signaling through tubby proteins. *Science* 2001;292:2041-50.
76. Ikeda A, Naggett JK, Nishina PM. Genetic modification of retinal degeneration in tubby mice. *Exp Eye Res* 2002;74:455-61.
77. Pomp D. Animal models of obesity. *Mol Med Today* 1999;5:459-60.
78. Augustine KA, Rossi RM. Rodent mutant models of obesity and their correlations to human obesity. *Anat Rec* 1999;257:64-72.
79. Diament AL, Fisler JS, Warden CH. Studies of natural allele effects in mice can be used to identify genes causing common human obesity. *Obes Rev* 2003;4:249-55.
80. Inui A. Obesity—a chronic health problem in cloned mice? *Trends Pharmacol Sci* 2003;24:77-80.
81. Pomp D. Genetic dissection of obesity in polygenic animal models. *Behav Genet* 1997;27:285-306.
82. Moody DE, Pomp D, Nielsen MK, Van Vleck LD. Identification of quantitative trait loci influencing traits related to energy balance in selection and inbred lines of mice. *Genetics* 1999;152:699-711.
83. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagareta H, et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med* 2002;8:731-7.
84. West DB, Waguespack J, McColister S. Dietary obesity in the mouse: interaction of strain with diet composition. *Am J Physiol* 1995;268:R658-R65.
85. Smith BK, Andrews PK, West DB. Macronutrient diet selection in thirteen mouse strains. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;278:R797-R805.
86. Paigen B. Genetics of responsiveness to high-fat and high-cholesterol diets in the mouse. *Am J Clin Nutr* 1995;62:458S-62S.
87. Smith Richards BK, Belton BN, Poole AC, Mancuso JJ, Churchill GA, Li R, et al. QTL analysis of self-selected macronutrient diet intake: fat, carbohydrate, and total kilocalories. *Physiol Genomics* 2002;11:205-17.
88. Warden CH, Fisler JS, Shoemaker SM, Wen PZ, Svenson KL, Pace MJ, et al. Identification of four chromosomal loci determining obesity in a multifactorial mouse model. *J Clin Invest* 1995;95:1545-52.
89. York B, Truett AA, Monteiro MP, Barry SJ, Warden CH, Naggett JK, et al. Gene-environment interaction: a significant diet-dependent obesity locus demonstrated in a congenic segment on mouse chromosome 7. *Mamm Genome* 1999;10:457-62.
90. Livingston JN. Genetically engineered mice in drug development. *J Intern Med* 1999;245:627-35.
91. Mauvais-Jarvis F, Kulkarni RN, Kahn CR. Knockout models are useful tools to dissect the pathophysiology and genetics of insulin resistance. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002;57:1-9.
92. Lee K, Villena JA, Moon YS, Kim KH, Lee S, Kang C, et al. Inhibition of adipogenesis and development of glucose intolerance by soluble pre-adipocyte factor-1 (Pref-1). *J Clin Invest* 2003;111:453-61.
93. Friedman C, Varela MC, Kok F, Setian N, Koiffmann CP. Prader-Willi syndrome: genetic tests and clinical findings. *Genet Test* 2000;4:387-92.
94. Nativio DG. The genetics, diagnosis, and management of Prader-Willi syndrome. *J Pediatr Health Care* 2002;16:298-303.
95. Gallagher RC, Pilis B, Albalwi M, Francke U. Evidence for the role of PWCR1/HBII-85 C/D box small nucleolar RNAs in Prader-Willi syndrome. *Am J Hum Genet* 2002;71:669-78.
96. Katsanis N, Lupski JR, Beales PL. Exploring the molecular basis of Bardet-Biedl syndrome. *Hum Mol Genet* 2001;10:2293-9.
97. Nishimura DY, Searby CC, Carmi R, Elbedour K, Van Maldergem L, Fulton AB, et al. Positional cloning of a novel gene on chromosome 16q causing Bardet-Biedl syndrome (BBS2). *Hum Mol Genet* 2001;10:865-74.
98. Mykytyn K, Braun T, Carmi R, Haider NB, Searby CC, Shastri M, et al. Identification of the gene that, when mutated, causes the human obesity syndrome BBS4. *Nat Genet* 2001;28:188-91.
99. Slavotinek AM, Stone ME, Mykytyn K, Heckenlively JR, Green JS, Heon E, et al. Mutations in MKKS cause Bardet-Biedl syndrome. *Nat Genet* 2000;26:15-6.
100. Mykytyn K, Nishimura DY, Searby CC, Beck G, Bugge K, Haines HL, et al. Evaluation of complex inheritance involving the most common Bardet-Biedl syndrome locus (BBS1). *Am J Hum Genet* 2003;72:429-37.
101. Badano JL, Ansley SJ, Leitch CC, Lewis RA, Lupski JR, Katsanis N. Identification of a novel Bardet-Biedl syndrome protein, BBS7, that shares structural features with BBS1 and BBS2. *Am J Hum Genet* 2003;72:650-8.
102. Reed DR, Ding Y, Xu W, Cather C, Price RA. Human obesity does not segregate with the chromosomal regions of Prader-Willi, Bardet-Biedl, Cohen, Borjeson or Wilson-Turner syndromes. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995;19:599-603.
103. Coleman DL. Diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetes* 1982;31(Suppl 1 Pt 2):1-6.
104. Coleman DL. Effects of parabiosis of obese with normal mice. *Diabetologia* 1973;9:294-8.
105. Pralong FP, Gaillard RC. Neuroendocrine effects of leptin. *Pituitary* 2001;4:25-32.
106. Harris RB. Leptin—much more than a satiety signal. *Annu Rev Nutr* 2000;20:45-75.
107. Cummings DE, Schwartz MW. Genetics and pathophysiology of human obesity. *Annu Rev Med* 2003;54:453-71.
108. Schwartz MW, Woods SC, Seeley RJ, Barsh GS, Baskin DG, Leibel RL. Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain? *Diabetes* 2003;52:232-8.
109. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997;387:903-8.
110. Farooqi S, Rau H, Whitehead J, O'Rahilly S. ob gene mutations and human obesity. *Proc Nutr Soc* 1998;57:471-5.
111. Echwald SM, Rasmussen SB, Sorensen TI, Andersen T, Tybjaerg-Hansen A, Clausen JO, et al. Identification of two novel missense mutations in the human OB gene. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997;21:321-6.
112. Farooqi IS, Keogh JM, Kamath S, Jones S, Gibson WT, Trussell R, et al. Partial leptin deficiency and human adiposity. *Nature* 2001;414:34-5.
113. Lloyd RV, Jin L, Tsumanuma I, Vidal S, Kovacs K, Horvath E, et al. Leptin and leptin receptor in anterior pituitary function. *Pituitary* 2001;4:33-47.
114. Ozata M, Ozdemir IC, Licinio J. Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3686-95.
115. Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest* 2002;110:1093-103.
116. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med* 1999;341:879-84.
117. Clement K, Vaïsse C, Lahliou N, Cabrol S, Pelloix V, Cassuto D, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998;392:398-401.
118. Challis BG, Pritchard LE, Creemers JW, Delplanque J, Keogh JM, Luan J, et al. A missense mutation disrupting a dibasic prohormone processing site in pro-opiomelanocortin (POMC) increases susceptibility to early-onset obesity through a novel molecular mechanism. *Hum Mol Genet* 2002;11:1997-2004.
119. Abdel-Malek ZA. Melanocortin receptors: their functions and regulation by physiological agonists and antagonists. *Cell Mol Life Sci* 2001;58:434-41.
120. Bjorbaek C, Hollenberg AN. Leptin and melanocortin signaling in the hypothalamus. *Vitam Horm* 2002;65:281-311.
121. MacNeil DJ, Howard AD, Guan X, Fong TM, Nargund RP, Bednarek MA, et al. The role of melanocortins in body weight regulation: opportunities for the treatment of obesity. *Eur J Pharmacol* 2002;450:93-109.
122. Krude H, Biebermann H, Schnabel D, Tansek MZ, Theunissen P, Muñilis PE, et al. Obesity due to proopiomelanocortin deficiency: three new cases and treatment trials with thyroid hormone and ACTH4-10. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4633-40.
123. Krude H, Biebermann H, Gruters A. Mutations in the human proopiomelanocortin gene. *Ann N Y Acad Sci* 2003;994:233-9.
124. Wardlaw SL. Clinical review: obesity as a neuroendocrine disease: lessons to be learned from proopiomelanocortin and melanocortin receptor mutations in mice and men. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1442-6.
125. Hinney A, Schmidt A, Nottebom K, Heiblitz O, Becker I, Ziegler A, et al. Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a non-sense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. *Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1483-6.
126. Vaïsse C, Clement K, Durand E, Hercberg S, Guy-Grand B, Froguel P. Melanocortin-4 receptor mutations are a frequent and heterogeneous cause of morbid obesity. *Clin Invest* 2000;106:253-62.
127. Farooqi IS, Yeo GS, Keogh JM, Aminian S, Jebb SA, Butler G, et al. Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency. *Clin Invest* 2000;106:271-9.

128. Miraglia del Giudice E, Cirillo G, Nigro V, Santoro N, D'Urso L, Raimondo P, et al. Low frequency of melanocortin-4 receptor (MC4R) mutations in a Mediterranean population with early-onset obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002;26:647-51.
129. Kobayashi H, Ogawa Y, Shintani M, Ebihara K, Shimodahira M, Iwakura T, et al. A novel homozygous missense mutation of melanocortin-4 receptor (MC4R) in a Japanese woman with severe obesity. *Diabetes* 2002;51:243-6.
130. Martí A, Corbalan MS, Forga L, Martínez JA, Hinney A, Hebebrand J. A novel nonsense mutation in the melanocortin-4 receptor associated with obesity in a Spanish population. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27:385-8.
131. Jacobson P, Ukkola O, Rankinen T, Snyder EE, Leon AS, Rao DC, et al. Melanocortin 4 receptor sequence variations are seldom a cause of human obesity: the Swedish Obese Subjects, the HERITAGE Family Study, and a Memphis cohort. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:4442-6.
132. Farooqi IS, Keogh JM, Yeo GS, Lank EJ, Cheetham T, O'Rahilly S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N Engl J Med* 2003;348:1085-95.
133. Branson R, Potoczna N, Kral JG, Lentes KU, Hoehe MR, Horber FF. Binge eating as a major phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *N Engl J Med* 2003;348:1096-103.
134. Cone RD. Haploinsufficiency of the melanocortin-4 receptor: part of a thrifty genotype? *J Clin Invest* 2000;106:185-7.
135. Lubrano-Berthelier C, Cavazos M, Le Stunff C, Haas K, Shapiro A, Zhang S et al. The human MC4R promoter: characterization and role in obesity. *Diabetes* 2003;52:2996-3000.
136. Macho Azcarate T, Martí del Moral A, Martínez Hernández JA. Estudios genéticos de la obesidad en humanos. *Med Clin (Barc)* 2000;115:103-10.
137. Krief S, Lonnqvist F, Rimbault S, Baude B, Van Spronsen A, Arner P, et al. Tissue distribution of beta 3-adrenergic receptor mRNA in man. *J Clin Invest* 1993;91:344-9.
138. Li LS, Lonnqvist F, Luthman H, Arner P. Phenotypic characterization of the Trp64Arg polymorphism in the beta 3-adrenergic receptor gene in normal weight and obese subjects. *Diabetologia* 1996;39:857-60.
139. Hara K, Okada T, Tobe K, Yasuda K, Mori Y, Kadowaki H, et al. The Pro12Ala polymorphism in PPAR gamma may confer resistance to type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;271:212-6.
140. Dionne IJ, Turner AN, Tchernof A, Pollin TI, Avirthal D, Gray D, et al. Identification of an interactive effect of beta3- and alpha2b-adrenoceptor gene polymorphisms on fat mass in Caucasian women. *Diabetes* 2001;50:91-5.
141. Hsueh WC, Cole SA, Shuldniner AR, Beamer BA, Blangero J, Hixson JE, et al. Interactions between variants in the beta3-adrenergic receptor and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 genes and obesity. *Diabetes Care* 2001;24:672-7.
142. Crowley V, Vidal-Puig AJ. Mitochondrial uncoupling proteins (UCPs) and obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2001;11:70-5.
143. Cassard-Doulcier AM, Bouillaud F, Chagnon M, Gelly C, Dionne FT, Oppert JM, et al. The Bcl I polymorphism of the human uncoupling protein (ucp) gene is due to a point mutation in the 5'-flanking region. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20:278-9.
144. Clement K, Ruiz J, Cassard-Doulcier AM, Bouillaud F, Ricquier D, Basdevant A, et al. Additive effect of A → G (-3826) variant of the uncoupling protein gene and the Trp64Arg mutation of the beta 3-adrenergic receptor gene on weight gain in morbid obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20:1062-6.
145. Shihara N, Yasuda K, Moritani T, Ue H, Uno M, Adachi T, et al. Synergistic effect of polymorphisms of uncoupling protein 1 and beta3-adrenergic receptor genes on autonomic nervous system activity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:761-6.
146. Matsushita H, Kurabayashi T, Tomita M, Kato N, Tanaka K. Effects of uncoupling protein 1 and beta3-adrenergic receptor gene polymorphisms on body size and serum lipid concentrations in Japanese women. *Maturitas* 2003;45:39-45.
147. Walder K, Norman RA, Hanson RL, Schrauwen P, Neverova M, Jenkins CP, et al. Association between uncoupling protein polymorphisms (UCP2-UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians. *Hum Mol Genet* 1998;7:1431-5.
148. Widen E, Lehto M, Kanninen T, Walston J, Shuldniner AR, Groop LC. Association of a polymorphism in the beta 3-adrenergic-receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *N Engl J Med* 1995;333:348-51.
149. Clement K, Manning BS, Basdevant A, Strosberg AD, Guy-Grand B, Froguel P. Gender effect of the Trp64Arg mutation in the beta 3 adrenergic receptor gene on weight gain in morbid obesity. *Diabetes Metab* 1997;23:424-7.
150. Ozumi T, Daimon M, Saitoh T, Kameda W, Yamaguchi H, Ohnuma H, et al. Genotype Arg/Arg, but not Trp/Arg, of the Trp64Arg polymorphism of the beta(3)-adrenergic receptor is associated with type 2 diabetes and obesity in a large Japanese sample. *Diabetes Care* 2001;24:1579-83.
151. Gagnon J, Mauriege P, Roy S, Sjostrom D, Chagnon YC, Dionne FT, et al. The Trp64Arg mutation of the beta3 adrenergic receptor gene has no effect on obesity phenotypes in the Quebec Family Study and Swedish Obese Subjects cohorts. *J Clin Invest* 1996;98:2086-93.
152. Deng HW. Population admixture may appear to mask, change or reverse genetic effects of genes underlying complex traits. *Genetics* 2001;159:1319-23.
153. Hirschhorn JN, Lohmueller K, Byrne E, Hirschhorn K. A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med* 2002;4:45-61.
154. Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature* 2000;405:847-56.
155. Cardon LR, Bell JI. Association study designs for complex diseases. *Nat Rev Genet* 2001;2:91-9.
156. Cooper DN, Nussbaum RL, Krawczak M. Proposed guidelines for papers describing DNA polymorphism-disease associations. *Hum Genet* 2002;110:207-8.
157. Deng HW, Li J, Recker RR. LOD score exclusion analyses for candidate genes using random population samples. *Ann Hum Genet* 2001;65:313-29.
158. Permutt MA, Hattersley AT. Searching for type 2 diabetes genes in the post-genome era. *Trends Endocrinol Metab* 2000;11:383-93.
159. Blangero J, Williams JT, Almasy L. Variance component methods for detecting complex trait loci. *Adv Genet* 2001;42:151-81.
160. Dyer TD, Blangero J, Williams JT, Gorling HH, Mahaney MC. The effect of pedigree complexity on quantitative trait linkage analysis. *Genet Epidemiol* 2001;21(Suppl 1):236-43.
161. Almasy L, Blangero J. Multipoint quantitative-trait linkage analysis in general pedigrees. *Am J Hum Genet* 1998;62:1198-211.
162. Hager J, Dina C, Francke S, Dubois S, Houari M, Vatin V, et al. A genome-wide scan for human obesity genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 10. *Nat Genet* 1998;20:304-8.
163. Rotimi CN, Comuzzie AG, Lowe WL, Luke A, Blangero J, Cooper RS. The quantitative trait locus on chromosome 2 for serum leptin levels is confirmed in African-Americans. *Diabetes* 1999;48:643-4.
164. Martin LJ, Cole SA, Hixson JE, Mahaney MC, Czerwinski SA, Almasy L et al. Genotype by smoking interaction for leptin levels in the San Antonio Family Heart Study. *Genet Epidemiol* 2002;22:105-15.
165. Mitchell BD, Cole SA, Comuzzie AG, Almasy L, Blangero J, MacCluer JW, et al. A quantitative trait locus influencing BMI maps to the region of the beta-3 adrenergic receptor. *Diabetes* 1999;48:1863-7.
166. Mitchell BD, Cole SA, Comuzzie AG. A major quantitative trait locus on chromosome 17 is linked to body mass index in Mexican Americans. *Circulation* 1889;98(Suppl):459.
167. Comuzzie AG, Funahashi T, Sonnenberg G, Martin LJ, Jacob HJ, Black AE, et al. The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for obesity and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4321-5.
168. Heilbronn LK, Smith SR, Ravussin E. The insulin-sensitizing role of the fat derived hormone adiponectin. *Curr Pharm Des* 2003;9:1411-8.
169. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol* 2003;14:561-6.
170. Vionnet N, Hani El-H, Dupont S, Gallina S, Francke S, Dotte S, et al. Genome-wide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet* 2000;67:1470-80.
171. Duggirala R, Almasy L, Blangero J, Jenkinson CP, Arya R, DeFrongo RA, et al. American Diabetes Association GENNID Study Group. Further evidence for a type 2 diabetes susceptibility locus on chromosome 11q. *Genet Epidemiol* 2003;24:240-2.
172. Stone S, Abkovich V, Hunt SC, Gutin A, Russell DL, Neff CD, et al. A major predisposition locus for severe obesity, at 4p15-p14. *Am J Hum Genet* 2002;70:1459-68.
173. Syvanen AC. Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nat Rev Genet* 2001;2:930-42.
174. Deng HW, Chen WM, Recker RR. QTL fine mapping by measuring and testing for Hardy-Weinberg and linkage disequilibrium at a series of linked marker loci in extreme samples of populations. *Am J Hum Genet* 2000;66:1027-45.
175. Bahring S, Aydin A, Luft FC. The study of gene polymorphisms. How complex is complex genetic disease? *Methods Mol Med* 2003;86:221-35.
176. Kruglyak L. Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *Nat Genet* 1999;22:139-44.
177. Jordal LB. Linkage disequilibrium and the search for complex disease genes. *Genome Res* 2000;10:1435-44.
178. Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, et al. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 2002;296:2225-9.
179. Daly MJ, Rioux JD, Schaffner SF, Hudson TJ, Lander ES. High-resolution haplotype structure in the human genome. *Nat Genet* 2001;29:229-32.
180. Cardon LR, Abecasis GR. Using haplotype blocks to map human complex trait loci. *Trends Genet* 2003;19:135-40.
181. Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, Li X, Orho-Melander M, Hara M, et al. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* 2000;26:163-75.
182. Reich DE, Cargill M, Bolk S, Ireland J, Sabeti PC, Richter DJ, et al. Linkage disequilibrium in the human genome. *Nature* 2001;411:199-204.

183. Abecasis GR, Noguchi E, Heinzmann A, Traherne JA, Bhattacharyya S, Leaves NI, et al. Extent and distribution of linkage disequilibrium in three genomic regions. *Am J Hum Genet* 2001;68:191-7.
184. Couzin J. Genomics. New mapping project splits the community. *Science* 2002;296:1391-3.
185. Cox LA, Birnbaum S, VandeBerg JL. Identification of candidate genes regulating HDL cholesterol using a chromosomal region expression array. *Genome Res* 2002;12:1693-702.
186. Burgess JK. Gene expression studies using microarrays. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001;28:321-8.
187. Walder KR, Fahey RP, Morton GJ, Zimmet PZ, Collier GR. Characterization of obesity phenotypes in *Psammomys obesus* (Israeli sand rats). *Int J Exp Diabetes Res* 2000;1:177-84.
188. Walder K, Kantham L, McMillan JS, Trevaskis J, Kerr L, De Silva A, et al. *Tanis*: a link between type 2 diabetes and inflammation? *Diabetes* 2002;51:1859-66.
189. Gao Y, Walder K, Sunderland T, Kantham L, Feng HC, Quick M, et al. Elevation in *Tanis* expression alters glucose metabolism and insulin sensitivity in H4IE cells. *Diabetes* 2003;52:929-34.
190. Collier GR, McMillan JS, Windmill K, Walder K, Tenne-Brown J, De Silva A, et al. *Beacon*: a novel gene involved in the regulation of energy balance. *Diabetes* 2000;49:1766-71.
191. Sainsbury A, Cooney GJ, Herzog H. Hypothalamic regulation of energy homeostasis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002;16:623-37.
192. Morwessel NJ. The genetic basis of diabetes mellitus. *AACN Clin Issues* 1998;9:539-54.
193. Cheverud JM, Vaughn TT, Pletscher LS, Peripato AC, Adams ES, Eriksson CF, et al. Genetic architecture of adiposity in the cross of LG/J and SM/J inbred mice. *Mamm Genome* 2001;12:3-12.
194. Walder K, Ziv E, Kalman R, Whitecross K, Shafir E, Zimmet P, et al. Elevated hypothalamic beacon gene expression in *Psammomys obesus* prone to develop obesity and type 2 diabetes. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002;26:605-9.

CRÍTICA DE LIBROS

Manual de bioética

Tomás Garrido GM, coordinadora. Barcelona: Ariel (Ariel Ciencia), 2001. ISBN: 84-344-8040-9. Depósito Legal: B. 44727-2001. 479 páginas.

Desde que Rensselaer van Potter acuñó el término de «bioética» en el año 1970, esta nueva ciencia ha tenido un desarrollo vertiginoso especialmente en EE.UU. Aunque su conocimiento ha sido más moderado en Europa en general, y en España en particular, nos hemos incorporado plenamente al desarrollo de esta nueva disciplina. Lo prueba con creces la aparición en el mercado editorial español de esta obra, de este manual universitario bien estructurado, bien escrito y bien editado.

Las líneas maestras de la obra las resume su coordinadora en su enjundioso prólogo. En primer lugar, debe resaltarse su vocación inicial: nace como un manual, dirigido a universitarios de los primeros cursos, muy particularmente a los que estudian carreras biosanitarias y jurídicas. En segundo lugar, debe resaltarse el antropocentrismo de este manual, pese a que incluye entre sus contenidos cuestiones de bioética anatómica, en terminología del filósofo Gustavo Bueno. El antropocentrismo de este manual lo justifica su coordinadora de este modo: «Respetando la diversidad de otros manuales, aboga por la bioética que tiene como punto de referencia a la persona, el valor de la vida humana como bien primario y fundamental, como la fuente de todos los derechos humanos y de todo el orden social. Afirmaciones que no contradicen la constante búsqueda de las garantías sociales, legales, científicas y culturales, pero precisamente para que la persona mantenga su centralidad, sin destruir la tradición y sin obstruir el futuro».

El manual se sustenta sobre 3 sólidos pilares que constituyen, a su vez, las partes de la obra. La primera parte, titulada «El marco de la bioética», persigue un objetivo muy concreto: sensibilizar al lector con el contenido o contenidos de esta nueva ciencia. La segunda parte, «Claves para la argumentación bioética», tiene como finalidad proporcionar herramientas para orientar o solucionar los problemas que se plantean entre ciencia y conciencia. Por último, la tercera parte, que lleva por título «Temas bioéticos específicos», plantea la práctica de la bioética en temas concretos. Amplíemos, someramente, el contenido de cada una de estas partes para poseer una idea cabal de la exhaustividad de este manual, que lo aproxima a las fronteras de un auténtico tratado.

La primera parte, se expande en 10 capítulos titulados así: «Analogías y diferencias entre ética, deontología y bioética», «el origen de la bioética y su desarrollo», «Bioética y derecho», «La bioética personalista como urdimbre humanizadora», «Bioética de la vida frágil», «El respeto a la debilidad», «El centro de trabajo y su dimensión ética», «Secretario profesional. Veracidad y consentimiento informado. Objeción de conciencia», «Enfermería y ética del cuidado», «Bioética y política». Como podrá observarse por los títulos, se trata de un florilegio de temas variados e interesantes, para sensibilizar e interesar por el tema. Nos resultaron especialmente interesantes los siguientes capítulos: el 7, dedicado a los comités éticos multidisciplinarios; el 8, en el que se estudian el secreto profesional y el consentimiento informado, y el 9, que trata de la enfermería y la ética del cuidado. Revisando la bibliografía aportada por los autores en esta primera parte, nos llevamos una grata sorpresa; de las 76 citas bibliográficas aportadas, 43 son españolas (56,58%) y 33 extranjeras (43,42%). Ello habla, en gran medida, de la pujanza actual de esta disciplina en nuestro país.

La segunda parte recoge trabajos bajo el título genérico de «Claves para la argumentación bioética». El título de cada trabajo es el siguiente: «El mun-

do natural», «Exigencias de la dignidad humana en biojurídica», «El estatuto biológico del embrión humano», «El estatuto del embrión humano: cuestiones científicas, filosóficas y jurídicas», «Genoma humano: perspectivas y aspectos éticos. La sexualidad humana. El derecho a la familia. Identidad personal y biojurídica», «Cerebro y bioética», y «Bioética y ecología». No nos atreveríamos a destacar netamente algunos temas sobre los demás. Personalmente, y por razones estrictamente conceptuales sobre los contenidos de la bioética, hubiésemos prescindido de los puntos 3, 4 y 5 del capítulo 11, el punto 1.2 del capítulo 12 y el capítulo 19; pero, entiéndase, los contenidos de los que personalmente hubiésemos prescindido están perfectamente ideados y expuestos. Lo único que queremos decir es lo siguiente: la bioética debe centrarse en la vida humana, debe ser antrópica; la vida en general debe ser objeto de la «bioética anatómica», más próxima a la metafísica o a la mística que a la auténtica bioética. Pero insistimos en que ésta es una apreciación personal. La bibliografía nacional es asimismo importante cuantitativamente en esta parte. La tercera parte, titulada «Temas bioéticos específicos», abarca 12 capítulos, cuyos títulos son los siguientes: «La bioética ante las nuevas tecnologías genéticas aplicadas a la agricultura», «Ética en experimentación con animales de laboratorio. La experimentación con humanos. Trasplantes y xenotransplantes. Investigación con células madre y clonación. Técnicas de reproducción asistida. Homosexualidad. Aspectos éticos y sociales del sida. El aborto. La disponibilidad de la vida en el ámbito del derecho penal: el suicidio y la huelga de hambre. Al filo de la muerte: cuidados paliativos v.s eutanasia», «Eutanasia neonatal. Limitación del tratamiento en las unidades de cuidados intensivos neonatales» y un anexo: «El caso Baby K». Excelentes trabajos todos ellos, sin excepción; por las razones metodológicas apuntadas, prescindiríamos de los capítulos 20 y 21. De todos modos, es enriquecedora su lectura y, desde este punto, está justificada su inclusión en este manual. También la bibliografía española queda en buen puesto en esta parte. La valoración global de la obra no puede ser mejor, a nuestro entender. Sus contenidos son completos, están claramente expuestos y cumplen, con creces, su objetivo de ser un manual de iniciación para universitarios relacionados con la ciencia de la vida o con las leyes. Hasta aquí, todo está bien. Pero para cursos más avanzados, o para cursos monográficos, sin llegar a la especialización en bioética, al razonamiento bioético debe dársele un mayor soporte racional y filosófico. De todos modos, nos gusta la orientación de este excelente manual casi con categoría de tratado, inscrito en la tradición europea en la que predomina el racionalismo sobre el empirismo y el utilitarismo; lo mejor, quizás, que se pueda decir de este buen manual y de sus autores es lo siguiente: en su entramado más íntimo laten los principios de la bioética racional, que busca un equilibrio dentro de la tradición continental y que indudablemente se encontrará por este camino, lejos del totalitarismo político y del liberalismo extremo libertario.

Por todo lo dicho, este manual, junto con otros, debe estar presente en la biblioteca personal de estudiantes, profesionales, clínicas y hospitales, y los miembros tanto de los comités éticos de investigación clínica como de los comités de ética asistencial encontrarán en él sugerencias y orientaciones para aproximarse a la solución de algunos casos con los que se enfrenten.

JOAQUÍN FERNÁNDEZ GARCÍA^a,
M. ESTHER GONZÁLEZ GARCÍA^a
y RODRIGO FERNÁNDEZ ALONSO^b

^aServicio de Hematología-Hemoterapia del Hospital de Cabueñas (SESPA). Gijón. Oviedo. España.

^bServicio de Microbiología. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. España.