

Bases moleculares de la obesidad: regulación del apetito y control del metabolismo energético



M. José Santi Cano, Antonio Barba Chacón y Alipio Mangas Rojas

Departamento de Medicina. Universidad de Cádiz.

Durante años se ha considerado que la causa de la obesidad residía principalmente en una falta de control de la ingesta por parte de los pacientes, y se responsabilizaba exclusivamente a ellos de su exceso de peso. No obstante, los recientes avances científicos demuestran que realmente existe un complejo trastorno de la regulación del apetito y del metabolismo energético.

El rápido avance de la genética molecular ha puesto de manifiesto su importancia en el desarrollo de la obesidad, al ser identificados algunos genes que predisponen a ésta tanto en animales como en seres humanos. En la actualidad se admite que la susceptibilidad genética a la obesidad es de una importancia indudable, como también lo son los factores ambientales para que se exprese fenotípicamente. Sabemos que no todos los individuos sometidos a las mismas condiciones ambientales responden igual, y mientras que unos aumentan de peso, otros lo mantienen estable. Esto hace pensar que hay mecanismos fisiológicos de compensación que en unos casos están funcionando correctamente y en otros no. Pero no podemos atribuir la actual epidemia de obesidad únicamente a cambios genéticos producidos en las últimas generaciones.

Por ello, la obesidad se considera, hoy día, el producto de la interacción de una serie de factores, genéticos, ambientales y psicosociales, que actúan fisiológicamente a través de mediadores de la ingesta y del gasto energético.

En esta revisión se abordan tanto los factores ambientales causantes de obesidad como los últimos avances en el estudio de los genes relacionados con ésta y el conocimiento actual acerca de los mecanismos moleculares de regulación del apetito y del gasto energético.

Factores ambientales que influyen en el desarrollo de obesidad

La influencia ambiental actúa mediante un aumento de la ingesta o un descenso en el gasto energético y se pone claramente de manifiesto en los estudios de inmigrantes en los que se demuestra que los cambios en la dieta y en el estilo de vida originan un incremento del índice de masa corporal (IMC) de estas personas^{1,2}.

Aumento de la ingesta

El organismo humano posee diversos mecanismos de defensa fisiológicos efectivos contra la depleción de los depósitos de energía, mientras que son menos eficaces aquellos de los que dispone contra la acumulación del exceso de

ésta. Además, en las mismas condiciones ambientales, cada individuo responde de distinta manera al aumento de aporte energético, que viene determinado por factores genéticos.

Por otro lado, el gasto metabólico basal tiene una capacidad limitada de adaptarse a cambios en la ingesta de alimentos para mantener neutro el balance energético. En circunstancias de ayuno o de sobrealimentación se considera que dicho gasto energético basal se modifica entre un 5 y un 10%³. Las variaciones de esta magnitud son insuficientes para compensar el efecto que puede tener, sobre el peso corporal, un incremento importante en la ingesta de alimentos, aspecto sobre el que más adelante se abundará.

Factores ambientales que inducen sobrealimentación. En las sociedades desarrolladas existe actualmente una amplia oferta de alimentos relativamente baratos y de fácil disponibilidad. Más aún, asistimos a una tendencia generalizada a aumentar el tamaño de las raciones estimulada por promociones publicitarias de restaurantes de comida rápida, como «súper tamaño» o «súper menú» por el mismo precio o las ofertas de 2 por 1 en los supermercados, que inducen al consumo de alimentos en exceso. Estas dietas ricas en grasa han demostrado tener un importante papel en el desarrollo de obesidad, tanto en experimentación animal como en seres humanos⁴⁻⁶. Aunque cabría pensar que el impacto de dichas dietas sería a través del aumento energético, también hay estudios que demuestran que el depósito de grasa corporal se produce en mayor proporción cuando el exceso de energía proviene de las grasas que cuando procede de hidratos de carbono o proteínas³. No obstante, esta hipótesis es controvertida, aunque ciertamente la ventaja de una dieta baja en grasa es que se evita el aumento de peso sin necesidad de grandes restricciones dietéticas en los demás alimentos.

El aparente efecto de la ingesta de grasa *per se* es difícil de separar del efecto de la densidad energética, ya que debido a que la grasa proporciona más energía por gramo (9 kcal/g) que los otros nutrientes (4 kcal/g), las comidas ricas en grasa tienen mayor densidad energética que las bajas⁷. Teniendo en cuenta que la gente suele comer raciones constantes de alimentos, es evidente que una dieta abundante en grasa aportará más calorías⁸. Por otra parte, existen productos en el mercado que se anuncian como de bajo contenido en grasa y/o calorías y que en realidad debido a su bajo aporte de fibra o agua no lo son, comparados con los alimentos a los que teóricamente sustituyen, como cereales integrales, frutas o verduras.

Aunque los estudios más recientes indican que el porcentaje de grasa dietética ha disminuido en los últimos años, esto también podría deberse a una infraestimación de la ingesta de grasa influida a veces por las recomendaciones médicas a la población acerca de la conveniencia de reducirla, lo que puede hacer que los encuestados no reconozcan la verdadera ingesta. Es ampliamente conocida la tendencia de los obesos a infravalorar esta ingesta en las encuestas dietéticas^{9,10}.

Correspondencia: Dra. M.J. Santi Cano.
Departamento de Medicina. Universidad de Cádiz.
Dr. Maraño, 3. 11002 Cádiz.
Correo electrónico: mjosasant@comcadiz.org

Recibido el 15-1-2001; aceptado para su publicación el 12-6-2001
Med Clin (Barc) 2001; 117: 463-476

También existe evidencia de que los distintos macronutrientes ejercen diferentes efectos sobre el comportamiento alimentario como resultado de su influencia en la saciedad y, así, por ejemplo, la grasa tendría menor capacidad saciante que las proteínas¹¹.

Además de los factores mencionados, existen otros como el hecho de que los seres humanos comemos aunque no tengamos hambre, por costumbre, por placer, de forma automática sin saber muy bien por qué e incluso como gratificación emocional en estados de ansiedad, estrés, aburrimiento, frustración o depresión. A todo esto hay que añadir la innegable influencia de la publicidad que emite mensajes en los que se relaciona la comida con la felicidad, aunque paradójicamente la sociedad discrimine al obeso y sobrevalore la delgadez, lo cual contribuye al aislamiento de éstos y a cerrar el círculo que los induce a comer por motivación emocional.

Descenso en el gasto energético

Inactividad física. Entre los factores ambientales que provocan inactividad física se encontrarían los avances tecnológicos y de transporte que han reducido marcadamente la necesidad de realizar ejercicio en la vida diaria. Por otra parte, la televisión, los juegos electrónicos y los ordenadores han contribuido a aumentar el sedentarismo tanto en niños como en adultos. A su vez, estas tareas con frecuencia se acompañan del consumo de alimentos de alto contenido calórico. Indudablemente, si la ingesta de alimentos no se reduce de acuerdo con el bajo nivel de actividad física se acabará produciendo obesidad. Es por ello que la ventaja de realizar ejercicio físico moderado reside en que evita el balance energético positivo sin las grandes restricciones dietéticas que requiere la vida sedentaria.

Se sabe que el componente más variable del gasto energético total es la actividad física, que representa entre un 20 y un 50% de éste. No obstante, cuando se analiza la cantidad de actividad física habitual realizada en grupos de personas con IMC de 20 a 35 se observan cifras similares, y las diferencias que presentan en el IMC no pueden explicarse sólo por la dieta¹². Hasta el momento no se ha descrito en la obesidad humana un defecto en los mecanismos metabólicos que controlan el gasto de energía. Pero los estudios longitudinales realizados en indios Pima, por ejemplo, demuestran que el riesgo de ganar peso durante 4 años de seguimiento es siete veces mayor en los individuos con cifras menores de metabolismo basal relativo que en los que lo tienen más elevado¹³. No obstante, estos resultados no se han confirmado en otras poblaciones¹⁴.

Nutrición fetal

Una deficiente nutrición del feto durante el desarrollo intrauterino puede determinar la aparición en el adulto de obesidad, hipertensión y diabetes tipo 2, de forma independiente de la herencia¹⁵. También se ha hallado una relación inversa entre el peso al nacer y la presión arterial sistólica en el adulto¹⁶. En los estudios en adultos que presentaron bajo peso al nacer se evidencia que hay casi siete veces más probabilidad de aparición de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2¹⁷. Esta predisposición a la obesidad y a la diabetes mellitus tipo 2 podría explicarse por una adaptación del feto en desarrollo a la deficiencia nutricional, ya que una de las principales causas de bajo peso al nacer es la malnutrición materna. El feto ajustaría su crecimiento y metabolismo a una baja disponibilidad de nutrientes, por lo que en la vida adulta podría tener una mayor capacidad de almacenar energía como grasa. Esto permitiría la supervi-

vencia en el útero en condiciones adversas pero actuará negativamente cuando el aporte nutritivo sea normal.

Con respecto al mecanismo de producción de todo ello podríamos argumentar que fuera debido a una deficiencia en la producción de insulina. Sabemos que los períodos de vida fetal y de recién nacido son críticos para el desarrollo de las células beta pancreáticas, debido a que aproximadamente la mitad de la masa de estas células ya está presente al año de edad.

Factores genéticos que influyen en el desarrollo de obesidad

Los conocimientos genéticos sobre obesidad han experimentado importantes progresos en los últimos años. No obstante, aunque se han encontrado varias mutaciones que causan obesidad en modelos animales, la situación en los seres humanos es bastante más compleja. Sólo algunas de las mutaciones, previamente descritas en ratones, se ha demostrado que tienen homología en casos muy raros de obesidad humana.

Además, la etiología genética de la obesidad humana es difícil de conciliar con la marcada variación en la prevalencia de esta enfermedad observada en función de factores socioeconómicos y demográficos, considerándose, hoy día, una enfermedad de sociedades industrializadas. Las formas más frecuentes de obesidad humana se atribuyen a interacciones de múltiples genes con factores ambientales y de conducta, y representarían el arquetipo de modelo poligénico en el que la susceptibilidad a la obesidad se debe a factores genéticos pero el ambiente determina la expresión fenotípica. Pero la dificultad que plantea la investigación genética de la obesidad en seres humanos reside en que los factores ambientales no son tan controlables como en los animales de laboratorio. Por ello uno de los mayores retos de la investigación biomédica actual es dilucidar la base genética subyacente en los diferentes tipos de obesidad.

Los estudios familiares, en gemelos y en casos de adopción han establecido que el riesgo de padecer obesidad de un individuo es mayor si tiene parientes obesos¹⁸. También se ha demostrado que los rasgos fenotípicos relacionados con la obesidad, como el IMC, la suma del grosor de los pliegues de grasa subcutánea, la masa grasa y las concentraciones plasmáticas de leptina son hereditarios¹⁹.

El término estadístico utilizado para expresar la relación entre un marcador genético y la obesidad es el de LOD (*logarithms of odds*) score, que es el valor del logaritmo de la probabilidad de relación entre dicho rasgo genético y el desarrollo de obesidad. Una LOD score de 3 corresponde a una probabilidad de error (p) inferior a 0,0001, lo que significa que la hipótesis de asociación entre un fenotipo y un locus correspondiente de un cromosoma es 1.000 veces más probable que la alternativa de no asociación. Se recomienda adoptar un LOD score de, como mínimo, 3,3 a 3,8 para declarar que existe una relación significativa, pero como ese umbral es difícil de conseguir se ha propuesto considerar «sugestivas de asociación» a las relaciones de menor significación²⁰. La mayoría de los estudios de asociación en humanos no han demostrado estos grados de significación sino cifras de alrededor de 2²¹, lo que podría reflejar el hecho de que algunos de los genes de obesidad identificados en modelos animales desempeñarían un papel menos importante en la obesidad humana.

Los estudios de relación entre marcadores cromosómicos y obesidad revelan la existencia de una asociación significativa entre la suma de los pliegues de grasa subcutánea de las extremidades y el marcador D 75514, localizado en el cro-

mosoma 7q31.3, cercano al gen de la leptina (LOD score de 3,1)²². Se ha encontrado relación entre el marcador D11S911 del cromosoma 11 y el gasto energético basal (LOD score de 4,6). Dicho marcador se encuentra en una región cercana al gen de la proteína desacopladora UCP2^{23,24}. También se han identificado dos regiones genómicas relacionadas con el porcentaje de grasa corporal, una en el cromosoma 3p24.2-p22 y la otra en el 11q21-q22²⁵. Igualmente, se ha encontrado una relación significativa entre determinadas regiones del cromosoma 2 y del 8 con las concentraciones de leptina (LOD score de 4,3 y 2,2, respectivamente)²⁶. Las áreas mencionadas de los cromosomas 2 y 8 contienen genes importantes relacionados con la obesidad. En el cromosoma 2 se localiza el gen que codifica la prohormona proopiomelanocortina (POMC) que probablemente desempeña un papel en la obesidad, ya que los productos de este gen han sido recientemente implicados en la regulación del apetito y en el cromosoma 8 se encuentra el gen del receptor β 3 adrenérgico, asociado al control del gasto energético^{27,28}.

Asimismo, las concentraciones de leptina sérica han demostrado tener una relación significativa con el *locus* humano 2p23.3, que contiene el gen de la POMC. Una pérdida completa de función de dicho gen causa obesidad monogénica tanto en ratones como en humanos²⁹⁻³¹. Son más de 40 los genes implicados en la actualidad en la obesidad humana, pero si consideramos el mapa con los genes, marcadores y regiones cromosómicas se alcanza ya una cifra superior a 200, que se sigue ampliando, como fruto de las continuas investigaciones³². No obstante, lo que últimamente se considera más útil es agrupar los datos en metaanálisis que aclaren cuál es el papel que realmente desempeñan estos genes y marcadores³³.

Mutaciones que originan obesidad en los seres humanos

La mayoría de las mutaciones conocidas en la obesidad humana son síndromes pleiotrópicos, en los que la obesidad es una más de las características del cuadro, como el síndrome de Prader Willi³⁴, el síndrome de Cohen³⁵, el síndrome de Alstrom³⁶, el síndrome de Bardet-Biedl^{37,38} y el síndrome de Borfeson-Fossmann-Lehmann³⁹. Sólo en un número muy reducido de seres humanos se han descrito mutaciones de algunos de los genes de obesidad demostrados en roedores pero la frecuencia de homocigotos para tales mutaciones es muy baja (alrededor de 10^{-3})³¹ (tabla 1). No son, por tanto, responsables de las formas más frecuentes de obesidad en la población aunque puedan desempeñar algún papel en ésta y además su conocimiento nos ayude a dilucidar los mecanismos etiopatogénicos que contribuyen a originarla^{40,41}.

Gen de la leptina y gen del receptor de leptina. La leptina es un polipéptido de 167 AA sintetizado principalmente en el adipocito y que actúa en el cerebro (hipotálamo) informando del grado de adiposidad para inhibir la ingesta de alimentos en función del contenido en triglicéridos de los adipocitos⁴². Los efectos hipotalámicos de la leptina serían: disminución del apetito y aumento del metabolismo basal con la consecuente pérdida de peso y activación del eje gonadal por aumento de la secreción de GnRH. También hay datos que indican una acción directa de la leptina sobre los tejidos periféricos al reducir la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos y aumentar la oxidación lipídica, lo que a su vez podría explicar la mejoría que produce ésta en la homeostasis de la glucosa. En los ratones obesos ob/ob el gen de la leptina está mutado de manera que son incapaces de producir esta hormona y transmiten el rasgo de forma recesiva.

TABLA1

Principales genes relacionados con la obesidad humana y su localización cromosómica

Gen	Localización
Leptina	7q31.3
Receptor de leptina	1p31
Proopiomelanocortina (POMC)	2p23.3
Receptor de melanocortina 4 (MC4R)	18q22
Proteínas desacopladoras	
UCP-1	4q31
UCP-2	11q13
UCP-3	11q13
Receptor beta 3 adrenérgico (B3-AR)	8p11.2-p12
Prohormona convertasa 1 (PC-1)	5q15-q21
Factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa)	6p21.3
Receptor para sustancias proliferadoras de peroxisomas (PPAR γ)	3p25
Péptido similar al glucagón (GLP-1)	2q36-q37

Además de obesos, son hiperfágicos, dislipémicos, hiperinsulinémicos y diabéticos⁴³.

Sin embargo, la prevalencia de mutación y/o polimorfismo de este gen en seres humanos es muy baja. Se han publicado varios casos en los que los pacientes eran homocigotos para diferentes mutaciones con pérdida de función del gen y exhibían fenotipos de obesidad mórbida, aumento del apetito, hiperfagia e hipogonadismo hipogonadotrópico^{44,45}. Aún así, la mayoría de los obesos humanos presenta concentraciones de leptina circulante elevadas sugiriendo esto la posibilidad de una resistencia a la leptina⁴⁶.

Con respecto al gen del receptor de la leptina, el modelo animal para su estudio lo representan los ratones obesos db/db, cuya mutación es también de herencia recesiva y con características similares al ratón ob, pero en este caso son hiperleptinémicos y resistentes a la inyección de leptina⁴⁷. Se diferencian, además, en que las concentraciones de colesterol y triglicéridos son más elevadas y en la mayor precocidad en el desarrollo de diabetes. Este receptor se localiza en leptomeninges, plexo coroideo e hipotálamo humano⁴⁸. Existen, al menos, 5 receptores funcionales para la leptina con estructura diferente según se localicen en plexo coroideo o hipotálamo lo que sugiere distinta función, transportadora en el primero y efectora en el segundo. Se ha publicado el hallazgo de una mutación del receptor de la leptina en una familia, en la que los individuos afectados eran homocigotos para una mutación que trunca el receptor antes del dominio de transmembrana y además de obesidad mórbida presentaban disminución en la secreción de somatotropina y tirotropina⁴⁹. También se han descrito polimorfismos de este receptor en seres humanos aunque con escasa prevalencia hasta ahora en obesos^{49,50}. En los seres humanos con mutación en el gen del receptor hay un retraso significativo en el crecimiento e hipotiroidismo central, mientras que esto no ocurre en los que presentan mutación del gen de la leptina. Por contra en los ratones hay concentraciones reducidas de hormona de crecimiento en ambos casos⁵¹.

Gen de la proopiomelanocortina y gen del receptor de melanocortina 4. La POMC es una prohormona polipeptídica que se expresa principalmente en el cerebro. El procesado de la POMC genera los siguientes péptidos: hormona estimuladora del melanocito (MSH) α , β y γ , hormona adrenocorticotropa (ACTH) y betaendorfina⁵². La hormona α -MSH estimula el receptor de melanocortina 4 (MC4R), que está presente en el hipotálamo e interviene en la regulación de la ingesta de nutrientes con efecto inhibitorio.

En pacientes obesos se han encontrado alteraciones en la secuencia del gen tanto de la POMC como del MC4R. En

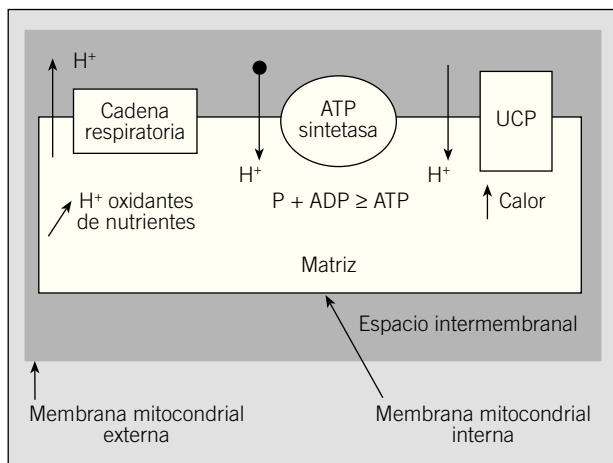


Fig. 1. Esquema de la estructura y función mitocondrial. La acción de la cadena respiratoria en la membrana mitocondrial interna genera un gradiente de protones al provocar el bombeo de hidrogeniones desde la matriz al espacio intermembranal. La reentrada de hidrogeniones se produce por dos mecanismos: a) por los poros que crea la ATP-sintetasa que aprovecha la energía originada en este proceso produciendo ATP a partir de ADP y P, y b) por los canales formados por las UCP que catalizan el paso de los protones acumulados en el espacio intermembranal hacia la matriz, disminuyendo así la eficacia del acoplamiento entre la cadena respiratoria y la fosforilación del ADP por la ATP-sintetasa mitocondrial al impedir la síntesis de ATP. La energía acumulada durante estas reacciones redox es entonces liberada en forma de calor. La acción desacoplante de las UCP supone, pues, un mecanismo de disipación de energía.

dos niños, uno homocigoto y otro heterocigoto compuesto para diferentes mutaciones con pérdida de función de la POMC, se ha observado alteración en la señalización de varios receptores de melanocortina, por lo que no eran solamente obesos sino que también presentaban trastornos de la pigmentación e insuficiencia adrenal, lo que se debe a ausencia de α -MSH y ACTH, ligandos de los receptores de melanocortina MC1R y MC2R, respectivamente⁵³. Los polimorfismos en el gen de la POMC son tan poco frecuentes en la población que no explican la etiología genética de la obesidad en la mayoría de los obesos^{54,55}. Varios grupos han publicado el hallazgo de mutaciones de MC4R en familias con obesidad de carácter dominante⁵⁶⁻⁵⁸. El fenotipo endocrinológico y metabólico era: obesidad de moderada a severa, poco o ningún trastorno del eje hipotálamo-hipofisario y función neuroendocrina normal, en lo que respecta a crecimiento, reproducción y función tiroidea.

A diferencia de las mutaciones en la leptina, en su receptor o en la POMC, las del MC4R son bastante prevalentes, y se encuentran entre el 3 y el 5% de los pacientes con IMC por encima de 40. Sin embargo, no todas las personas con variantes genéticas del MC4R son obesas, lo que se explicaría por la compensación de posibles vías redundantes de control a este nivel⁶¹.

Genes de las proteínas desacopladoras. Las proteínas desacopladoras (UCP [*uncoupling protein*]) son un grupo de proteínas situadas en la membrana mitocondrial interna cuya función es la termogénesis. La vía final común de oxidación de los nutrientes catabolizados en el organismo es el ciclo de Krebs. Los hidrógenos liberados en las deshidrogenaciones de este ciclo se incorporan a la cadena respiratoria mitocondrial, formada por un conjunto de transportadores que transfieren electrones de una sustancia a otra hasta el aceptor final que es el oxígeno, por lo que a este proceso también se le llama respiración celular. Como en algunas de estas reacciones se libera energía acoplada a la respiración

celular se produce la fosforilación oxidativa o formación de adenosín trifosfato (ATP) a expensas de adenosín difosfato (ADP) y fosfato, que representa un mecanismo de recuperación de la energía de la oxidación. Pero la respiración se puede «desacoplar» de la fosforilación oxidativa y, así, la respiración continúa pero no se forma ATP. Esto es lo que harían las UCP, canalizar la energía hacia la termogénesis. Las UCP actúan como canales alternativos de protones que permiten una disipación regulada de la energía obtenida de los alimentos⁵⁹ (fig. 1). No obstante, mientras que el papel de las UCP en la génesis de la obesidad en roedores está demostrado, en seres humanos existe más controversia acerca de ello.

Las UCP constituyen una familia formada por tres miembros conocidos hasta ahora: a) la UCP-1 se encuentra únicamente en el tejido adiposo marrón y, por tanto, no debe tener un papel relevante en el gasto energético humano por la escasa presencia de este tipo de tejido adiposo en los seres humanos pero sí que lo tiene en roedores⁶⁰; b) la UCP-2 se expresa en el tejido adiposo blanco además de en otros órganos⁶¹, y c) la UCP-3 se localiza preferentemente en el músculo esquelético⁶². Se han encontrado polimorfismos relacionados con la obesidad en UCP-1 y UCP-3. El polimorfismo de la UCP-1 parece presentar un efecto aditivo con el del gen del receptor $\beta 3$ adrenérgico en el aumento de peso corporal de individuos con ambas mutaciones^{63,64}.

Las variantes en el gen de la UCP-3 se han observado fundamentalmente en sujetos africanos y podría tratarse de una mutación mantenida por su efecto beneficioso como mecanismo de adaptación a períodos de escasez de alimentos pero no sería favorable cuando éstos son abundantes provocando obesidad⁶⁵.

En los estudios sobre UCP-2 no se ha demostrado asociación entre polimorfismos del gen y obesidad en seres humanos, aunque sí se ha descrito el hallazgo de una menor expresión de ARN mensajero de UCP-2 en el tejido adiposo de obesos mórbidos^{66,67}.

Genes de los receptores beta adrenérgicos. El sistema adrenérgico desempeña un papel importante en el control del gasto energético estimulando la lipólisis y la termogénesis, con lo que se moviliza la energía almacenada en los triglicéridos de los adipocitos. Estos efectos se llevan a cabo a través de los receptores $\beta 1$, $\beta 2$ y $\beta 3$ adrenérgicos. Los receptores $\beta 1$ y $\beta 2$ están distribuidos por todo el organismo. Los receptores $\beta 3$ ($\beta 3$ -AR) están situados en el tejido adiposo, en el músculo y en el tracto gastrointestinal. La menor actividad de los $\beta 3$ -AR podría provocar obesidad a través de la disminución de la termogénesis en el tejido adiposo pardo y por el descenso de la lipólisis en el tejido adiposo blanco.

Hasta ahora, son varios los estudios que han relacionado una mutación del $\beta 3$ -AR con inicio temprano de diabetes mellitus tipo 2⁶⁸ y la obesidad^{69,70}, pero también son muchos los estudios que no demuestran dicha asociación⁷¹⁻⁷³.

A primera vista, la hipótesis de que el polimorfismo del $\beta 3$ -AR podría empeorar el gasto de energía y causar obesidad parecería razonable. Sin embargo, la grasa marrón en humanos está presente en neonatos y se reduce, después, al mínimo en el adulto y, además, se discute la evidencia bioquímica de que la mutación empeora la señalización del receptor⁷⁴.

También se ha descrito más recientemente la relación del polimorfismo del receptor $\beta 2$ con la obesidad, fundamentalmente con la de acumulación subcutánea, que se encuentra aún pendiente de estudios más extensos⁷⁵.

Gen de la prohormona convertasa 1. La prohormona convertasa 1 (PC1) y la carboxipeptidasa E (CpE) son enzimas

cuyos sustratos más habituales son diversas prohormonas. Ambas enzimas se expresan intensamente en los gránulos secretores de las células neuroendocrinas. La mutación en el gen de la CpE del ratón *fat/fat* conlleva un procesamiento defectuoso de varios neuropéptidos y prohormonas originando hiperproinsulinemia, diabetes y obesidad⁷⁶. Aunque no se han descrito defectos de CpE en seres humanos, sí que se ha observado un cuadro de obesidad grave, hipogonadismo hipogonadotrópico, hiperproinsulinemia y función adrenal alterada en una mujer caucasiana, atribuido a déficit de PC1 por mutación en este gen⁷⁷. En la actualidad se está estudiando la asociación de obesidad con otras variantes del gen. El mecanismo de producción sería un mal procesamiento de neuropéptidos relacionados con la ingesta y el gasto energético como el neuropéptido Y (NPY), la proopiomelanocortina y la colecistocinina.

Gen del factor de necrosis tumoral alfa. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es un polipéptido producido principalmente por los macrófagos, también llamado caquectina por su profundo efecto anorexígeno en procesos crónicos inflamatorios o tumorales, al que se le atribuyen gran número de funciones. Se le ha relacionado con la aterosclerosis y la enfermedad coronaria⁷⁸, el metabolismo lipídico, la resistencia a la insulina y la obesidad^{79,80}.

La producción de TNF- α en el tejido adiposo tanto de roedores como de seres humanos obesos está elevada en proporción a la cantidad de grasa acumulada y al parecer tiene un efecto inhibidor de la producción de leptina. Se ha identificado un polimorfismo en el gen de TNF- α relacionado con mayores porcentajes de grasa corporal y resistencia a la insulina⁸¹. También se ha examinado la expresión de los receptores de TNF- α (TNFR1 y TNFR2) en el adipocito de seres humanos obesos, y se ha demostrado una relación directamente proporcional entre la cantidad de ARNm de TNFR2 en el tejido graso y TNFR2 circulante y obesidad, así como entre la expresión de TNFR2 e IMC e hiperinsulinemia⁸².

Genes de los receptores para sustancias proliferadoras de peroxisomas. Los receptores para sustancias proliferadoras de peroxisomas (PPAR) son una familia de receptores nucleares que, una vez activados por ligandos específicos, actúan como factores de transcripción que modulan la expresión de diversos genes. Dicha familia incluye tres tipos de receptores: α , β y γ . Estos receptores se activan por los proliferadores de peroxisomas, que son un grupo de compuestos que inducen un aumento en el tamaño y número de peroxisomas hepáticos y renales, que son organelas celulares especializadas en la producción de reacciones oxidativas por las que el oxígeno molecular es utilizado como sustrato para producir peróxido de hidrógeno. Los peroxisomas producen detoxificación de sustancias sanguíneas y oxidación de los ácidos grasos de cadena larga que por su tamaño no pueden ser oxidados en la mitocondria.

El PPAR γ se localiza, principalmente, en el tejido adiposo y el sistema inmunológico e interviene en la diferenciación del preadipocito en adipocito, en el metabolismo lipídico extrahepático, en la sensibilidad a la insulina, en la respuesta inmune y en la carcinogénesis. Se han descrito, a su vez, tres isoformas: $\gamma 1$, $\gamma 2$ y $\gamma 3$. Mientras que el PPAR $\gamma 2$ sólo se expresa en adipocitos diferenciados, el 1 y el 3 lo hacen tanto en preadipocitos como en adipocitos diferenciados. La expresión de PPAR γ es modulada por factores nutricionales, disminuye con el ayuno y se normaliza con la ingestión de alimentos. Entre los ligandos endógenos del PPAR γ se encuentran la prostaglandina 15d-PGJ2 y los metabolitos oxidados del ácido linoleico y entre los sintéticos estarían las

tiazolidinedionas, utilizadas en el tratamiento de la diabetes tipo 2 como sensibilizadoras a la insulina⁸³. Se han descrito polimorfismos del PPAR γ relacionados tanto directa como inversamente con la obesidad y la diabetes^{84,85}.

Gen del glucagón. Los productos de la expresión del gen del glucagón en las células L de la mucosa intestinal son dos péptidos similares al glucagón (*glucagon like peptide*: GLP-1 y GLP-2). El GLP-1 estimula la secreción de insulina, inhibe la de glucagón y favorece el depósito de nutrientes⁸⁶. En el sistema nervioso central actúa sobre su receptor (GLP-1R), cuya expresión es muy abundante en el hipotálamo de la rata, como neurotransmisor que inhibe la ingesta de alimentos y en el aparato digestivo retrasa el vaciado gástrico⁸⁷. No está bien establecida su posible relación con la leptina y la vía del NPY y, por tanto, tampoco lo está su papel en la obesidad⁸⁸.

Otros genes. Otros genes objeto de estudio en la actualidad por su posible relación con la obesidad son los del receptor 1 de sulfonilurea, la lipasa sensible a hormona, la apolipoproteína D, la proteína de unión a ácidos grasos y la fosfatasa ácida de bajo peso molecular entre otros, de los que son necesarios más estudios para poder extraer conclusiones. En la actualidad, la investigación se centra en buscar los genes responsables de la obesidad cuya disfunción tendría efecto sobre la ingesta de nutrientes o sobre el gasto de energía. Para considerar a un gen candidato se ha de demostrar que su función es necesaria para prevenir la obesidad y que la pérdida completa de dicha función causa un gran efecto fenotípico pero no compromete otros sistemas cruciales para el desarrollo y la viabilidad. Sin embargo, muchos de los genes que se asocian, en la actualidad, con la obesidad humana no reúnen estos criterios por lo que se necesitan más estudios que permitan aclarar estas cuestiones y utilizar los resultados de las investigaciones con beneficio terapéutico en un futuro que esperemos sea muy próximo.

Regulación de la ingestión de alimentos y del gasto de energía

El comportamiento alimentario es un aspecto fundamental en el mantenimiento del peso corporal, para lo que la cantidad de energía consumida debe ajustarse de forma precisa a la cantidad de energía gastada, lo que supone un proceso de control muy complejo. Factores como las emociones, los componentes sociales, la hora del día, la conveniencia y el coste influyen en cada comida y, como consecuencia de ello, la ingesta de energía es variable y puede que no se correlacione bien con el gasto energético diario. Sin embargo, cuando se mide un período que abarca muchas comidas, la mayoría de los individuos ajustan el aporte de energía al gasto con gran precisión⁸⁹. Este fenómeno refleja la existencia de un proceso de control activo para mantener la estabilidad en la cantidad de energía corporal almacenada en forma de grasa.

La aplicación de la genética molecular en ratones ha sido especialmente importante para el avance de estos conocimientos. Además, la identificación de las moléculas que controlan la ingesta de alimentos ha generado el desarrollo de nuevas vías de investigación sobre fármacos para el tratamiento de la obesidad y de otros trastornos alimentarios.

Señales moleculares que regulan la ingestión de alimentos a corto plazo

El aumento de la ingestión de alimentos después de un período de ayuno es un ejemplo de la regulación del aporte de

energía. Tradicionalmente, se ha mantenido que el deseo de comer se iniciaba cuando la glucemia o los lípidos descendían y la saciedad se producía cuando se reponían sus valores. Todos estos cambios serían regulados por el hígado y el cerebro. No obstante, este modelo no explicaba bien la estabilidad de los depósitos de grasa a largo plazo, por lo que ya hace aproximadamente 50 años se sugirió que existían señales inhibitorias producidas en proporción a los depósitos de grasa que actuarían en el cerebro para reducir la ingesta⁹⁰. Con respecto al control específico de cada una de las comidas se propuso que fueran las señales generadas durante éstas las que proporcionarían información inhibitoria al cerebro para terminar dicha comida⁹¹. Se demostró la existencia de «factores de saciedad», péptidos secretados por el tracto gastrointestinal como la colecistocinina (CCK), los miembros de la familia de la bombesina (bombesina, péptido liberador de gastrina, neuromedina B) y el glucagón. El bloqueo de estos péptidos endógenos con antagonistas específicos aumenta la ingesta de comida⁹². Su acción se combina con otras señales como la distensión gástrica que actúa sinérgicamente.

Los péptidos de la saciedad informan al cerebro a través de los nervios periféricos (fibras vagales aferentes) y de los receptores del propio cerebro. Esta información es transmitida al núcleo del tracto solitario, un área del tronco del encéfalo que integra señales aferentes que llegan desde la lengua (gusto) y del sistema gastrointestinal. La información pasa entonces al hipotálamo y otras áreas del cerebro.

Se sabe que el circuito neuronal necesario para la acción de los factores de la saciedad está localizado en el tronco encefálico, ya que la administración de CCK a animales descebrados con interrupción de las conexiones entre el tronco del encéfalo y el cerebro, reduce el apetito. No obstante, en contra de lo que cabría esperar, la administración repetida de péptidos de la saciedad no modifica el peso corporal, ya que en las ratas se observa una reducción de la cantidad de cada comida, aunque existe una compensación mediante el aumento del número de comidas espontáneas, por lo que estos péptidos tienen una influencia limitada en la adiposidad. Este hecho implica la existencia de otras señales que actúen a largo plazo.

Regulación del balance energético a largo plazo

Señal periférica de adiposidad: leptina. La regulación del balance energético a largo plazo se realiza mediante un sistema constituido por hormonas segregadas en proporción a la adiposidad corporal, como la leptina y la insulina, que actuarían sobre el sistema nervioso central. Éste a su vez responde a los cambios en la grasa corporal activando la vía anabólica o catabólica, la primera mediante la producción de NPY hipotalámico que estimula la ingestión de alimentos y la segunda a través del sistema de la melanocortina hipotalámica (α -MSH) lo que la reduce y produce pérdida de peso. Tanto la insulina como la leptina inhiben los procesos anabólicos y estimulan los catabólicos a escala central⁹³.

La leptina regula la ingesta de alimentos en relación inversa a la masa grasa. En la actualidad se considera al cerebro como el principal objetivo de la leptina en su efecto anorexígeno. Esto se ve corroborado por el hecho de que la administración directa de leptina en el sistema nervioso central (SNC) reduce la ingesta de alimentos y porque en las áreas hipotalámicas consideradas importantes en el control del apetito se ha comprobado la expresión de receptores de leptina.

Al parecer, la leptina es transportada hacia el interior del SNC por un proceso saturable mediado por receptores, de manera que cuando las concentraciones plasmáticas de lep-

tina son elevadas, la eficacia con la que ésta penetra en el cerebro se reduce. Los receptores de la leptina localizados en las células endoteliales de los capilares cerebrales mediarían en su transporte desde la sangre al cerebro, lo que explica la correlación directa existente entre las concentraciones de ésta en el líquido cefalorraquídeo y las plasmáticas⁹⁴. La leptina y la insulina comparten muchas propiedades, entre las que se encuentran las siguientes: las concentraciones circulantes de ambas son proporcionales a la adiposidad. La insulina entra también en el sistema nervioso central por un proceso de transporte saturable mediado por receptores a través de las células endoteliales de los capilares cerebrales. Los receptores de la insulina están localizados en las mismas áreas hipotalámicas claves que los receptores de la leptina. La insulina administrada directamente en el SNC reduce la ingestión de alimentos y el peso corporal de una manera dependiente de la dosis. En cambio, la secreción de la insulina se produce en respuesta a una sola comida mientras que con la secreción de la leptina esto no ocurre. Los mecanismos de control de la síntesis y secreción de la leptina permanecen aún sin aclararse aunque la insulina parece desempeñar un papel clave. Aunque, a diferencia del efecto inmediato que la insulina ejerce sobre la glucosa circulante, su acción sobre las concentraciones de leptina plasmática se retrasa varias horas.

Un aspecto importante de la respuesta catabólica a la administración de leptina es que la pérdida de peso parece deberse enteramente a disminución de grasa por un aumento relativo del metabolismo basal, acompañado de una ingesta energética reducida. Curiosamente en animales con pérdida ponderal comparable pero motivada sólo por restricción calórica, la tasa metabólica decrece marcadamente por reducción en la actividad del sistema nervioso simpático. Ya que la leptina aumenta la actividad simpática, éste puede ser el mecanismo de acción sobre el metabolismo basal. Del mismo modo, la administración experimental de insulina en el sistema nervioso central reduce a su vez el peso corporal en mayor proporción a la esperada por la disminución en la ingestión de calorías y grasa que origina⁹².

Tras todo lo expuesto, paradójicamente, la mayoría de los mamíferos obesos (excepto en presencia de la mutación ob/ob, deficiente en leptina) tienen concentraciones plasmáticas de leptina e insulina elevadas y parecen ser resistentes a la anorexia inducida por leptina. La existencia de dichas concentraciones elevadas de leptina en seres humanos obesos sugiere que algunos casos de obesidad fueran debidos a una menor acción de la leptina en el cerebro. Entre los mecanismos que podrían contribuir a la resistencia a la leptina estarían los siguientes: a) la disminución en el transporte de la leptina circulante a través de la célula endotelial de la barrera hematoencefálica hacia el líquido intersticial cerebral⁹⁵ (el hecho de haberse encontrado en obesos concentraciones bajas de leptina en el líquido cefalorraquídeo en comparación con las concentraciones plasmáticas apoya esta posibilidad)⁹⁶; b) un descenso en la trasducción de la señal del receptor de la leptina. La activación del receptor de la leptina, como algunos otros receptores de citocinas, induce la expresión de una proteína que inhibe la producción de más señal de trasducción y que se denomina «supresora de señal-3 de citocinas» (SOCS-3)⁹⁷. La posible contribución de la proteína SOCS-3 a las formas adquiridas de resistencia a la leptina y a la obesidad es un área de investigación en la actualidad, y c) tras la activación del receptor de la leptina en el cerebro, se requiere una serie de respuestas neuronales para controlar la ingesta de energía. El fallo en uno o más de estos sistemas neuronales del circuito también se manifestaría como resistencia a la leptina.

Neuropéptidos centrales con efecto anabólico y catabólico:

1. Neuropéptidos centrales con efecto anabólico: neuropéptido Y. El hipotálamo contiene múltiples sistemas neuronales involucrados en la regulación del equilibrio de energía (fig. 2). Una de las vías implicadas es la del NPY, un neurotransmisor expresado de forma muy extensa en el cerebro y que se sintetiza en el núcleo arcuato (ARC). Los cuerpos celulares situados en dicho núcleo proyectan sus axones al núcleo paraventricular (PVN), un lugar crucial de integración para las aferencias relacionadas con la homeostasis de energía. La administración intracerebral de NPY induce balance energético positivo al aumentar el almacenamiento de grasa, actuando fundamentalmente en el PVN y el área perifornical adyacente donde abundan los receptores de NPY (Y1 e Y2). Además reduce el estímulo del sistema nervioso simpático al tejido adiposo pardo, por lo que desciende el gasto de energía mientras que la expresión de las enzimas involucradas en la lipogénesis en el tejido adiposo blanco aumenta de forma simultánea. Se produciría, por tanto, un incremento en la ingesta de energía, un descenso del gasto energético y un aumento de la lipogénesis, todo lo cual origina obesidad⁹⁸.

La vía ARC-PVN-NPY se activa en respuesta a señales originadas por la depleción de los depósitos de grasa corporal, como ocurre en el ayuno o en la diabetes mellitus no controlada. En estos casos aumentaría la expresión del gen NPY en las neuronas del núcleo ARC y la liberación de NPY en el PVN⁹⁹. También, en otras circunstancias que se acompañan de pérdida de peso, como restricción calórica, lactancia y ejercicio intenso, la actividad del NPY está aumentada en dicha vía, respuesta mediada, al menos en parte, por una menor retroalimentación negativa de la insulina y la leptina¹⁰⁰. Todos estos datos sugieren que el sistema NPY hipotalámico está normalmente inhibido por dicha retroalimentación negativa ejercida por la leptina y la insulina, hipótesis corroborada por la alta concentración de receptores para la leptina e insulina localizados en el núcleo ARC.

Tras la pérdida de peso, al descender la concentración de estas hormonas (leptina e insulina), se activaría el sistema NPY, facilitando la recuperación ponderal. Aun así, el hecho de que el ratón transgénico deficiente en NPY tenga aparentemente una ingesta y un peso corporal normal sugiere que otro sistema pueda compensar al NPY en la homeostasis de la energía, es decir que posiblemente existan sistemas redundantes para el control de dicha homeostasis. El menor grado de obesidad e hiperglucemia observado en ratones ob/ob con bloqueo además del gen NPY (deficientes, por tanto, en leptina y NPY) demuestra la contribución de este péptido a la señalización en este complejo mecanismo de control. Pero el hecho de que estos ratones alcancen menos peso que aquellos con sólo la mutación ob/ob indica que el efecto de la leptina se debe únicamente en parte a la modulación de la secreción de NPY en el hipotálamo y que ésta tiene probablemente otros mediadores.

Los glucocorticoides también están implicados en la regulación de la energía a través de sus efectos sobre el NPY. Se comportan como antagonistas endógenos de la leptina y la insulina en este control. La adrenalectomía atenúa el efecto producido por el NPY de aumento en la ingesta de alimentos y desciende la expresión del gen NPY, todo lo cual se revierte con la administración de glucocorticoides¹⁰¹. Además, su deficiencia aumenta la capacidad de la insulina y de la leptina de provocar anorexia y pérdida de peso, este efecto también se revierte con la administración de dichas hormonas¹⁰².

Otros neuropéptidos con capacidad de aumentar la ingesta de alimentos y el almacenamiento de energía corporal

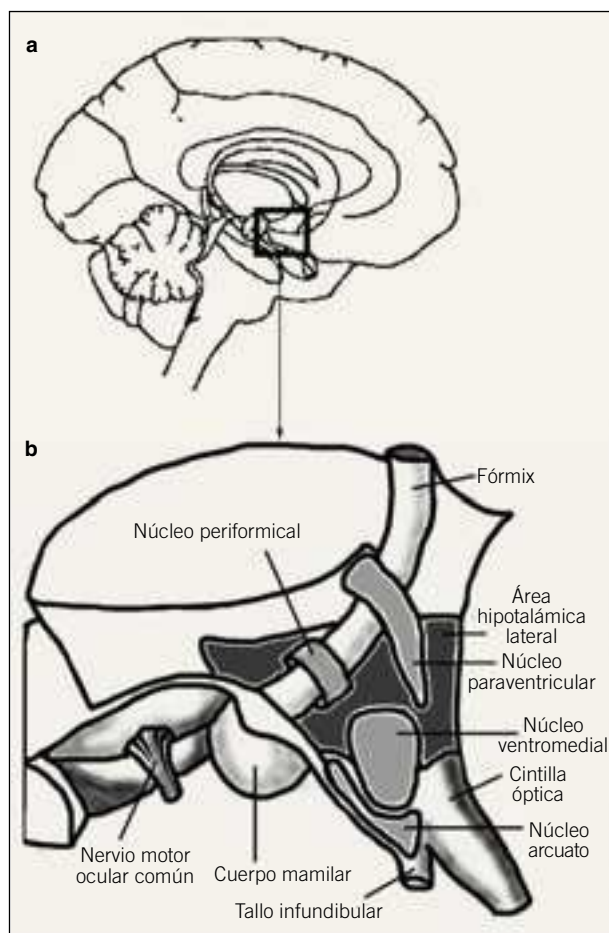


Fig. 2. Esquema del hemisferio cerebral izquierdo visto desde su cara medial (a) para mostrar los núcleos hipotalámicos implicados en el control de la ingesta y gasto de energía (imagen ampliada en b).

son: la hormona concentradora de melanina (MCH) y las orexinas A y B (también llamadas hipocretinas 1 y 2) que estimulan el apetito y cuya expresión aumenta en respuesta al ayuno^{103,104}.

2. Neuropéptidos centrales con efecto catabólico: melanocortinas. Las melanocortinas (MC) son péptidos procedentes de su precursor, la proopiomelanocortina, que actúan uniéndose a receptores específicos. En el cerebro de mamíferos la expresión del gen POMC se limita a las neuronas del núcleo ARC, que se proyectan sobre áreas que participan en la homeostasis de energía tales como el PVN. Estas áreas cerebrales expresan receptores de MC, concretamente receptores MC3 y MC4. Los agonistas de estos receptores originan anorexia mientras que los antagonistas tienen el efecto opuesto¹⁰⁵.

La melanocortina endógena más implicada en el control de la ingesta y el peso corporal es la hormona α -MSH, que se une con una gran afinidad a los receptores MC3 y MC4. El ayuno reduce las concentraciones de ARNm de POMC en el núcleo ARC¹⁰⁶, lo que puede ser consecuencia de una menor señal de la leptina ya que en las neuronas POMC del núcleo ARC se expresan receptores de leptina¹⁰⁷. Asimismo, la capacidad de la leptina, administrada centralmente, para disminuir la ingesta de alimentos y activar las neuronas del PVN, es bloqueada por los antagonistas de los receptores de melanocortinas. Por tanto, el efecto de la leptina parece

realizarse, al menos en parte, mediante la activación de la vía de la melanocortina hipotalámica. Además, la deficiencia genética del receptor MC4 en los ratones origina hiperfagia y obesidad¹⁰⁸.

Un antagonista endógeno de los receptores MC1 cutáneos es la proteína agouti, que en condiciones normales sólo se expresa en la piel y cuya producción ectópica en el cerebro de ratones transgénicos causa obesidad. Se trata del ratón agouti (Ay/a), un modelo autosómico dominante de obesidad genética caracterizado por aumento de la cantidad de esta proteína en la piel, lo que reduce la señal de los receptores MC1 aclarando su color, y en el cerebro, donde antagoniza a los receptores MC4, lo que estimula el apetito¹⁰⁹. Por otra parte, la proteína relacionada con agouti (AGRP) que se sintetiza en las neuronas del núcleo ARC y comparte homología con la proteína agouti es antagonista de los receptores MC3 y MC4, y su sobreexpresión transgénica ocasiona también obesidad debida a hiperfagia¹¹⁰.

El hecho de que la AGRP y la POMC se expresen en el núcleo arcuato y que dicha expresión esté regulada por el ayuno y por la deficiencia de leptina indica que el papel de los receptores de la melanocortina en el SNC es importante en la regulación del peso corporal. Aunque en la actualidad se considere al NPY como la molécula orexígena más potente, su efecto permanece pocas horas, mientras que el de la AGRP persiste durante más tiempo, aproximadamente una semana tras su administración intracerebroventricular.

Otro neuropéptido catabólico hipotalámico regulado parcialmente por la leptina y la insulina es la hormona liberadora de corticotropina (CRH), sintetizada en las neuronas del PVN. La administración central de CRH (o de urocortina, sustancia emparentada químicamente con ésta) reduce la ingestión de alimentos y el peso corporal¹¹¹. La expresión del gen de CRH hipotalámico aumenta tras la administración de leptina y es inhibida por los glucocorticoides. La sobreproducción de CRH está implicada en la anorexia asociada a insuficiencia adrenal y el descenso en la intensidad de la señal de CRH puede contribuir a la acción de los glucocorticoides de provocar aumento de peso y obesidad^{112,113}.

La hormona liberadora de tirotropina (TRH)¹¹⁴, el péptido regulador de la transcripción de anfetamina y cocaína (CART)¹¹⁶ y la interleucina 1 beta¹¹⁶ forman parte de una amplia lista de péptidos que originan balance energético negativo. La síntesis neuronal de estos péptidos aumenta en respuesta a la señal de adiposidad elevada que llega al cerebro. La leptina, por lo tanto, modula a las neuronas del núcleo ARC, y reduce la secreción de NPY y AGRP; por el contrario, aumenta la expresión de POMC y CART.

3. Vías de señalización hipotalámicas. Desde hace seis décadas los estudios de estimulación eléctrica y lesión implicaban al hipotálamo como el principal centro de control de la ingesta de alimentos y del peso corporal. Estos estudios identificaron al núcleo ventromedial hipotalámico (VMN) como el centro de la saciedad, mientras que el área lateral (LHA) era considerada centro del hambre. La estimulación del VMN suprimía la ingesta de alimentos y las lesiones bilaterales de éste inducían hiperfagia y obesidad. Al ampliarse el conocimiento al respecto, la noción de «centros específicos» del cerebro que controlan la ingesta de alimentos y el peso corporal se ha sustituido por el de «vías neuronales» que generan respuestas integradas con la información aferente relacionada con cambios en los depósitos de energía corporal⁹². La investigación de estas áreas está experimentando un gran desarrollo en la actualidad y, por los datos disponibles, la homeostasis de la energía probablemente implique vías integradas y redundantes más que un discreto grupo de neuronas conectas en serie.

La transducción de las señales de adiposidad en una respuesta neuronal se produce en el núcleo arcuato, cercano al III ventrículo y constituido por una agrupación de cuerpos neuronales en forma de arco que ocupan aproximadamente la mitad de la longitud del hipotálamo. Tanto el NPY como la AGRP se localizan en las neuronas de este núcleo¹¹⁷. La proopiomelanocortina y el péptido CART se encuentran en un subgrupo de neuronas adjunto lo que indica que los circuitos originados en estas áreas cerebrales tienen un papel altamente especializado en la regulación energética¹¹⁸.

Todos estos hallazgos sugieren que el núcleo arcuato es el principal sitio de transducción de las señales aferentes de la leptina y de la insulina circulantes en una respuesta neuronal. Esta hipótesis lleva implícita el hecho de que las áreas cerebrales inervadas por neuronas del núcleo arcuato constituyen el lugar en el que se encuentren las neuronas de segundo orden. Las áreas hipotalámicas del núcleo paraventricular, zona incerta, área perifornical (PFA) y LHA están abundantemente inervadas por axones del núcleo arcuato con neuronas NPY/AGRP y POMC/CART¹¹⁹. La estimulación del PVN inhibe la ingestión de alimentos; ocurre lo contrario tras la estimulación del LHA y PFA. Las lesiones bilaterales del PVN causan síndrome hiperfágico con obesidad, mientras que la lesión bilateral del LHA origina anorexia y pérdida de peso.

Estos datos indican que las moléculas señalizadoras anorexígenas y orexígenas podrían ser sintetizadas en el PVN y LHA, respectivamente. Son varios los neuropéptidos sintetizados en las neuronas PVN que reducen la ingesta de alimentos y el peso corporal cuando se administran centralmente. Entre éstos se incluyen la CRH, que causa anorexia y activa el sistema nervioso simpático, además de su papel como regulador del eje hipotálamo-hipofisario adrenal, la TRH que reduce la ingesta de alimentos y estimula el eje tiroideo y la oxitocina que también disminuye la ingesta a la vez que regula la función uterina. Las neuronas del PVN que estén bajo el influjo del núcleo arcuato son estimuladas por las melanocortinas y/o CART e inhibidas por el NPY.

La hormona concentradora de melanina es un péptido orexígeno localizado en el área cerebral LHA/PFA cuya síntesis se eleva tras la restricción de energía y por la deficiencia de leptina. Los ratones transgénicos con bloqueo del gen de MCH presentan una menor ingestión de alimentos y son extremadamente delgados¹²⁰.

El receptor de MCH (como el receptor NPY) está acoplado a la subunidad Gi de ensamblaje de proteína G de la membrana plasmática y la unión de la MCH inhibe la formación de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) además de reducir la señal de proteincinasa A (PKA)¹²¹. Este efecto es opuesto al mediado por la activación de los receptores con acción anorexígena como los MC4 o los de CRH, los cuales están acoplados a la subunidad Gs y en consecuencia aumentan la señal de AMPC y PKA.

Dos péptidos más que se expresan exclusivamente en LHA, zona incerta y PFA aumentan la ingestión de alimentos. Son las denominadas hipocretinas 1 y 2¹⁰³ u orexinas A y B¹⁰⁴ por los dos grupos que las descubrieron de forma simultánea. Curiosamente, la delección del gen de hipocretina/orexina en ratones induce narcolepsia¹²². Estas sustancias serían inhibidas por las melanocortinas o CART y estimuladas por el NPY desde las neuronas del núcleo arcuato.

Hay un tráfico bidireccional entre el núcleo arcuato y PVN y PFA y LHA. Más que ser receptores pasivos de la información que viene del núcleo arcuato, estas segundas neuronas modifican activamente la información que les llega de allí. También se han descrito receptores de leptina en PVN y LHA pero en menor concentración que en el núcleo arcuato.

Acoplamiento entre las señales de saciedad y adiposidad

La información generada durante el transcurso de una comida llega al tronco encefálico por medio de fibras aferentes del nervio vago y por las aferencias que pasan por la médula espinal procedentes del área gastrointestinal superior. Esta información converge en el núcleo del tracto solitario (NTS), un área del tronco cerebral que integra la información tanto gastrointestinal como de las vísceras abdominales y del sentido del gusto que procede de la cavidad oral.

Las señales que inducen saciedad y alcanzan el NTS se inician por estimulación mecánica o química del estómago y del intestino delgado durante la ingestión de alimentos. Se trata de aferencias relacionadas con el metabolismo energético en el hígado y de señales humores, como la colecistocinina liberada tras la estimulación por parte de los nutrientes de las células secretoras neuroendocrinas que se localizan en la luz intestinal. El proceso de finalización de la comida inducido por estas señales de saciedad persiste incluso cuando, en experimentación animal, se cortan todas las conexiones neuronales entre cerebro y tronco encefálico¹²³. Por tanto, dicho proceso implica áreas cerebrales que funcionan en ausencia de influencia hipotalámica.

Entonces, ¿cómo responde el cerebro a las señales de adiposidad y adapta la cantidad de una determinada comida? Las investigaciones recientes demuestran que la leptina potencia el efecto de la CCK de activar las neuronas del núcleo del tracto solitario (NTS), que son responsables de integrar la información aferente relacionada con la saciedad con la información descendente de las áreas cerebrales involucradas en la homeostasis de energía¹²⁴. Las neuronas del NTS tienen interconexiones recíprocas con áreas del cerebro, como PVN y expresan receptores MC4, de leptina y de POMC (es la única área cerebral, aparte del núcleo arcuato que expresa genes POMC). El NTS contiene por tanto neuronas que responden a la leptina y a través de proyecciones ascendentes contribuye a la respuesta adaptativa de la alimentación a cambios en el contenido de grasa corporal. De este modo un individuo de bajo peso que tiene concentraciones reducidas de leptina e insulina será menos sensible a las señales de saciedad de una sola comida. Por contra, teóricamente, otro con exceso de peso será más sensible a esas señales y debería comer menos cantidad. En cualquier caso, la influencia de las señales de adiposidad sobre la ingesta de alimentos es integrada en intervalos de varios días; no es, por tanto, una respuesta inmediata a una o varias comidas.

Papel de los neurotransmisores en la ingestión de alimentos. El aumento de noradrenalina (NA) en el PVN u otras áreas hipotalámicas en ratones deficientes en leptina (ob/ob) puede contribuir a la hiperfagia existente, lo que sugiere una acción anabólica de la noradrenalina sobre el sistema nervioso central¹²⁵. Los efectos de la dopamina sobre la alimentación, por el contrario, son variables dependiendo de la región cerebral estudiada y no se ha demostrado un papel muy claro de ésta en el control de la ingestión de alimentos.

El sistema de la serotonina (5-hidroxitriptamina [5-HT]) comprende cuerpos celulares en el tronco encefálico que incluyen el núcleo del rafe dorsal que se proyecta ampliamente a través del cerebro y es utilizado por varios fármacos para el tratamiento de la obesidad que actúan centralmente como la dexfenfluramina y la sibutramina. Estos fármacos aumentan la señal del receptor de serotonina y, por tanto, suprimen la ingesta de alimentos, mientras que los antagonistas tienen el efecto opuesto. El receptor 5-HT_{2c} está implicado en este proceso, el bloqueo de este

gen aumenta el apetito y el peso corporal¹²⁶. Pero la obesidad en este modelo experimental es modesta, especialmente comparada con el fenotipo del ratón al que le falta el receptor MC4 o el receptor de la leptina. Además, los hallazgos recientes sugieren la posibilidad de que al menos alguno de los efectos de la leptina de reducir el peso sea mediado a través del aumento en la intensidad de la señal de serotonina¹²⁷. Sin embargo, la anorexia inducida por leptina está intacta en los ratones a los que les falta el receptor 5HT_{2c}, lo que indica que la capacidad de la leptina para reducir la ingestión de alimentos no requiere la señal de este receptor.

El sistema de neurotransmisores aminérgicos, por tanto, presenta efectos ambiguos sobre la ingestión de alimentos y no parece que sean importantes en el control de la adiposidad.

Bases moleculares de la termogénesis adaptativa

Sabemos que hay personas que pueden comer lo que quieren sin ganar peso y siempre se ha supuesto que esto se debe a las características propias de su metabolismo. Otras, en cambio, tendrían una tasa metabólica más baja y una mayor tendencia a engordar. No obstante, cuando se les determina el metabolismo basal no se detectan grandes diferencias entre las personas con normopeso y los obesos.

El cerebro regula dos aspectos del balance energético, la ingesta, como ya se ha descrito, y el gasto. La energía se puede gastar mediante realización de trabajo o produciendo calor (termogénesis). La termogénesis adaptativa o producción regulada de calor depende de la temperatura ambiental y de la dieta. Las mitocondrias son las organelas que convierten los nutrientes en CO₂, agua y ATP, y son por tanto esenciales a la hora de mediar los efectos de la disipación de energía. La generación de calor es debida al hecho de que muchas reacciones del metabolismo energético son exotérmicas, como las catalizadas por la cadena respiratoria y las que consumen ATP (Na/K ATPasa, Ca ATPasa, actinmiosina ATPasa). La termogénesis adaptativa o facultativa se define como la producción de calor en respuesta a la temperatura ambiental y a la dieta, y sirve para proteger al organismo de la exposición al frío o para regular el balance energético después de cambios en la dieta.

En roedores el sitio donde tiene lugar, principalmente, la termogénesis adaptativa es el tejido adiposo marrón. El gasto energético en humanos también es sensible a la temperatura ambiente, pero el efecto sobre el metabolismo basal es más reducido. Así, por ejemplo, el descenso en la temperatura ambiente de 28 a 22 °C causa un incremento del 7% en la producción de calor¹²⁸. Es por ello que en los seres humanos, a diferencia de los roedores, la respuesta al frío se realiza fundamentalmente adaptando la cantidad de ropa.

La dieta es también un regulador potente de la termogénesis adaptativa. La desnutrición puede descender la tasa metabólica basal hasta un 40%. Asimismo, la restricción de alimentos capaz de originar una reducción del peso corporal de un 10% causa, también, un descenso en el gasto energético. Éste es un proceso adaptativo obvio. Sin embargo, esta respuesta contribuye a la menor eficacia a largo plazo del tratamiento de la obesidad.

La alimentación por el contrario aumenta el gasto de energía y tiene efectos en el metabolismo tanto agudos como crónicos¹²⁸. A largo plazo, la sobrealimentación aumenta el gasto energético, lo que es una protección relativa contra el desarrollo de obesidad y está influido por la carga genética. Una respuesta anormal podría contribuir al desarrollo de obesidad¹²⁹.

El tejido adiposo marrón también desempeña un papel importante en la termogénesis inducida por la dieta. La administración central o periférica de leptina aumenta la actividad del sistema nervioso simpático en la grasa marrón, el ARNm de UCP1 y la cantidad de estas proteínas desacopladoras^{130,131}. Durante la desnutrición ocurre lo contrario. Los ratones transgénicos con reducción del tejido adiposo marrón desarrollan obesidad. Sin embargo, los ratones con bloqueo del gen UCP1 son sensibles al frío pero no obesos y esto puede atribuirse a efectores de la termogénesis alternativos como UCP-2 y UCP-3 o posiblemente a un papel regulador del apetito del tejido marrón¹³².

Los adultos humanos a diferencia de los roedores no tienen grandes depósitos de grasa marrón pero ambos poseen células adiposas marrones dispersas en los depósitos de grasa blanca, por lo que se cree que el tejido adiposo marrón también puede desempeñar un papel en la termogénesis adaptativa en humanos. Por otra parte, el músculo esquelético representa el 40% del peso corporal y tiene una capacidad mitocondrial significativa. Las variaciones en el metabolismo basal de los seres humanos podrían deberse en parte a diferencias del gasto energético muscular. Del mismo modo la contribución de otros tejidos como el hígado a la termogénesis adaptativa en humanos es desconocida¹³³.

Proteínas desacopladoras (UCP). La mitocondria utiliza la energía contenida en los hidratos de carbono y grasa de la dieta para sintetizar compuestos de alta energía como el ATP en el proceso de óxido-reducción (cesión y aceptación de protones) de la cadena respiratoria.

Las proteínas desacopladoras aumentan la permeabilidad de la membrana interna mitocondrial a la entrada de los protones del espacio intermembranal que previamente fueron bombeados desde el interior de la cámara mitocondrial hacia dicho espacio (fig. 1). Abren canales de protones alternativos que no pueden ser utilizados para obtener energía como ATP y cuya energía por tanto se disipa en forma de calor. Así la UCP1 reduce el número de ATP que pueden formarse a partir de una cantidad dada de nutrientes; por tanto, aumenta la tasa metabólica del cuerpo y genera calor. Normalmente, la proteína se mantiene inactiva por unión a un nucleótido, pero cuando hay necesidad de mayor producción de calor, se activan las neuronas que liberan noradrenalina en la superficie de las células del tejido adiposo marrón y se libera la inhibición¹³⁴.

En los estudios de consumo de oxígeno, tanto las células humanas como las animales, cuando están metabolizando los nutrientes, evidencian que entre un 25 y un 35% del oxígeno es utilizado para compensar la pérdida de protones del canal mitocondrial. Es decir, se observa una significativa proporción de desacople permanentemente cuya causa podría explicarse por la acción de las UCP.

Durante muchos años se creyó que las proteínas desacopladoras no ejercían un papel importante en el metabolismo del ser humano, que aunque tiene un gen de UCP1 solamente se activa en la grasa marrón, que desaparece después del nacimiento. Por su parte la UCP2 se expresa en diferentes tejidos como cerebro, músculo y células grasas. Mientras que la UCP3 parece ser activa principalmente en las células musculares. No se sabe con seguridad si UCP2 y UCP3 tienen igual función que UCP1. No obstante ambos genes son idénticos al gen UCP1 en un 56%, lo que sugiere que las proteínas que codifican tengan funciones similares. Como ya se ha mencionado anteriormente las investigaciones se centran en buscar indicios de que las variaciones en los genes de estas proteínas podrían afectar al peso corporal al estar asociados con un metabolismo basal «perezoso».

Sin embargo, no todos los estudios evidencian una conexión entre UCP humana y obesidad. A pesar de esto, el ayuno total aumenta la expresión de los genes UCP2 y UCP3. Como es obvio, éstas no serían las condiciones en que el organismo debiera aumentar el gasto de energía. No obstante, esta paradoja se explicaría por el hecho de que cuando hay una privación total de alimentos, el cuerpo ha de mantener su temperatura central, recurriendo a las UCP incluso a costa de quemar sus depósitos de grasa, pero en condiciones menos extremas de restricción de alimentos el organismo disminuiría la actividad de las UCP para salvar la energía. Por otra parte, estudios dietéticos demuestran que una dieta rica en grasa puede aumentar la expresión de los genes de estas proteínas para proteger al ratón contra la obesidad.

Se ha sugerido que las variaciones en la producción o en la actividad de las UCP serían las causantes de la diferencia en el metabolismo basal de las personas con mayor o menor tendencia a engordar. Pero, incluso, aunque no fuera ésa la causa, las UCP pueden ser una opción en el tratamiento de la obesidad, ya que actúan en la grasa y en el músculo, mientras que otras muchas moléculas reguladoras del peso lo hacen principalmente en el cerebro. De esta forma se podría elevar el gasto metabólico basal evitando los posibles efectos colaterales sobre el sistema nervioso central de las otras drogas. Tendría un resultado muy similar a la realización de ejercicio físico. Si estas investigaciones dan sus frutos, en el futuro se podrá contar con fármacos para la obesidad que estimulen la actividad de estas proteínas. Serían compuestos con la capacidad de elevar ligeramente el nivel de desacople, lo que aumentaría la termogénesis y, por tanto, el metabolismo basal, permitiéndonos prescindir de las dietas muy rigurosas y perpetuas.

Regulación por el cerebro de la termogénesis adaptativa. La exposición al frío se detecta en el cerebro, produciéndose la activación de las vías eferentes que controlan la disipación del calor. El principal componente efector de esta respuesta es el sistema nervioso simpático, el cual inerva el tejido adiposo marrón y el músculo esquelético y cuyo control central proviene del hipotálamo¹³⁵.

La estimulación de los receptores betaadrenérgicos por el frío o por agentes farmacológicos tiene efectos agudos y crónicos sobre el tejido adiposo marrón. A los pocos segundos aumenta la actividad de la UCP-1 y tras horas o días de estimulación crónica se eleva la cantidad de estas proteínas¹³⁶. El mecanismo de producción de este efecto es la elevación del AMPc, que activa la lipólisis y el aumento resultante en los ácidos grasos libres estimula a la UCP-1¹³⁷. Los receptores beta 3 adrenérgicos se expresan en abundancia, fundamentalmente, en los adipocitos marrones (y también en los adipocitos blancos en roedores) y ya se han sintetizado agonistas selectivos de este receptor. El tratamiento de ratones con tales agonistas dobla el consumo de oxígeno, demostrando la capacidad de este mecanismo termogénico. En grandes mamíferos como el perro, la vaca y los primates, al nacimiento sólo están presentes pequeños depósitos de grasa marrón que van desapareciendo durante el desarrollo. Pero sabemos que el tratamiento crónico con agonistas beta 3 aumenta la cantidad de grasa marrón en perros y primates adultos y que en seres humanos con feocromocitoma abunda el tejido adiposo marrón^{138,139}. Estos datos demuestran que existe una fuente latente de adipocitos marrones inducible por catecolaminas. Además incluso en roedores, la eficacia de los agonistas beta 3 adrenérgicos para prevenir o revertir la obesidad parece depender de la capacidad de expandir un cierto número de adipocitos ma-

rrones localizados en los típicos depósitos de grasa blanca, una respuesta que está influida por la carga genética¹⁴⁰. Sin embargo, las bases moleculares y celulares precisas por las que se produce ese reclutamiento o restablecimiento de los adipocitos marrones inducido a través de la estimulación de los receptores beta 3 adrenérgicos no está todavía establecida.

El cerebro también influye en el gasto de energía por medio del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides. El mecanismo por el que las hormonas tiroideas estimulan la termogénesis no se ha precisado aún, pero parece ser debido a múltiples efectos sobre varios aspectos del metabolismo energético, entre los que estaría el canal de protones mitocondrial. Se han observado aumentos de las concentraciones de hormonas tiroideas en algunos modelos de experimentación con alta ingesta calórica, que descienden marcadamente durante el ayuno, efecto dependiente de la disminución de las concentraciones de leptina y que es mediado por un descenso en la expresión de la TRH¹⁴¹. Esto indica que la disminución de las concentraciones de las hormonas tiroideas puede contribuir al descenso de la termogénesis inducida por la desnutrición.

Para terminar, también pueden existir otros sitios de desacople aparte del canal de protones mitocondrial, aunque la evidencia es menor. Entre éstos se incluyen el descenso en el bombeo de protones por la citocromo oxidasa (complejo IV) o una mayor actividad del sistema glicerol-fosfato que compite con el sistema enzimático aspartato-malato, que es más eficiente en la obtención de energía por oxidación en la mitocondria. De aquí que los ratones transgénicos que sobreexpresan la glicerol 3 fosfato deshidrogenasa sean delgados y presenten aumento de la termogénesis¹⁴². Finalmente la contribución a la termogénesis adaptativa de los ciclos de iones y sustratos tales como los canales de Na⁺, K⁺ y Ca²⁺ y el metabolismo proteico, no se conoce en la actualidad adecuadamente pero podría ser significativa.

Control transcripcional de los genes mitocondriales. El estudio de los promotores de los genes mitocondriales localizados en el núcleo celular ha permitido identificar los factores respiratorios nucleares (NRF1 y NRF2) como componentes clave que activan a los promotores de muchos genes del sistema de transporte mitocondrial de electrones, como citocromo c, citocromo c oxidasa subunidad II y IV y subunidades de Fo/F1-ATP sintetasa¹⁴³. Otro objetivo de los factores respiratorios nucleares es el factor de transcripción mitocondrial (mtTf)-A, un gen localizado en el núcleo, cuyo producto proteico penetra en la mitocondria y estimula la transcripción y replicación del genoma de la mitocondria¹⁴⁴. Muchos estudios han apuntado que la hormona tiroidea podría ser reguladora de la biogénesis y función mitocondrial *in vivo*. Además, la expresión de los genes mitocondriales está reducida en los animales hipotiroides y es estimulada bajo la administración de hormona tiroidea. Ciertos genes de la estructura y función mitocondrial codificados en el núcleo celular responden a la hormona tiroidea a través de receptores.

El promotor (lugar del ADN donde se une una polimerasa de ARN para iniciar la transcripción) del gen que codifica a UCP1 ha recibido mucha atención recientemente. Es un elemento de 220 pares de bases localizado junto al gen UCP1, que promueve la transcripción en el tejido adiposo marrón y en respuesta a la estimulación beta adrenérgica. La unión de éste al PPAR γ , un receptor nuclear que se expresa en el tejido adiposo blanco y marrón, es esencial para la función del promotor de UCP-1¹⁴⁵. Se ha demostrado un papel regulador del sistema PPAR γ en el desarrollo y dife-

renciación del tejido adiposo marrón y en la expresión de UCP-1. Los PPAR también parecen regular la expresión de UCP-2 y UCP-3 y dado que los ácidos grasos y sus derivados son ligandos para estos receptores nucleares, los PPAR podrían contribuir a la regulación nutricional de UCP-2 y UCP-3¹⁴⁶. Además, se ha sugerido que sea un modulador de la función de PPAR γ el que realmente determine la expresión de UCP-1 en la grasa marrón más que el receptor por sí mismo, sería un coactivador de PPAR γ , al que se ha denominado PGC-1, el cual también regula el sistema NRF^{147,148}.

Como se ha visto quedan aún por resolver cuestiones esenciales acerca de la regulación del metabolismo energético, como el verdadero papel fisiológico de la UCP-2 y de la UCP-3 o cuál es el principal mecanismo termogénico en el músculo esquelético humano, entre otras. Es más, son muchas las vías de investigación abiertas actualmente sobre la etiopatogenia de la obesidad y será probablemente la integración de los resultados de cada una de ellas la que nos proporcione las claves que ahora desconocemos para poder tratar con eficacia a nuestros pacientes obesos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ravussin E. Metabolic differences and the development of obesity. *Metabolism* 1995; 9 (Supl 3): 12-14.
2. Taubes G. As obesity rates, experts struggle to explain why. *Science* 1998; 280: 1367-1368.
3. Hill JO, Peters JC. Environmental Contributions to the Obesity Epidemic. *Science* 1998; 280: 1371-1374.
4. Chang S, Grahnan B, Yakubu F, Lin D, Peters JC, Hill JO. Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am J Physiol* 1990; 259: 1096-1102.
5. Salmon DM, Flatt JP. Effect of dietary fat content on the incidence of obesity among ad libitum fed mice. *Int J Obes* 1985; 9: 443-449.
6. Lissner L, Levisky DA, Strupp BJ, Kalkwarf HJ, Roe DA. Dietary fat and the regulation of energy intake in human subjects. *Am J Clin Nutr* 1987; 46: 886-892.
7. Stubbs RJ, Harbron CG, Murgatroyd PR, Prentice AM. Covert manipulation of dietary fat and energy density: Effect on substrate flux and food intake in men eating ad libitum. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 316-329.
8. Westerterp-Plantenga MS, Wijkman-Duijsens NE, Verboeket-van de Venne WP, De Graaf K, Van het Hof KH, Weststrate JA. Energy intake and body weight effects of six months reduced or full fat diets, as a function of dietary restraint. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22: 14-22.
9. Lichtman SW, Pisarska K, Berman E, Pestone M, Dowling H, Offenbacher E. Discrepancy between self-reported and actual calorie intake and exercise in obese subjects. *N Engl J Med*. 1992; 327: 1893-1898.
10. Poppitt SD, Swann D, Black AE, Prentice AM. Assessment of selective under-reporting of food intake by both obese and non-obese women in metabolic facility. *Int J Obesity* 1998; 22: 303-311.
11. Lawton C, Burley V, Wales J, Blundell J. Dietary fat and appetite control in obese subjects: Weak effects on satiation and satiety. *Int J Obesity* 1993; 17: 409-416.
12. Prentice AM, Black AE, Coward WA, Cole TJ. Energy expenditure in affluent societies: an analysis of 319 doubly-labelled water measurements. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50: 93-97.
13. Ravussin E, Lillioja S, Knowler WC, Christin L, Freymond D, Abbott WG et al. Reduced rate of expenditure as risk factor for body weight. *N Engl J Med* 1988; 318: 467-472.
14. Siedell J, Muller D, Sorkin J, Andres R. Fasting respiratory exchange ratio and resting metabolic rates as predictors of weight gain: The Baltimore Longitudinal Study on Ageing. *Int J Obesity* 1992; 16: 667-674.
15. Barker DJP. Fetal origins of coronary heart disease. *Br Med J* 1995; 311: 171-174.
16. Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *Br Med J* 1989; 298: 654-657.
17. Hales CN, Barjer DJ, Clark PM, Cox LJ, Fall C, Osmond C et al. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *Br Med J*. 1991; 303: 1019-1022.
18. Maes HH, Neale MC, Eaves LJ. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet* 1997; 27: 325-351.
19. Comuzzi 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.

20. Lander E, Kruglyak L. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat Genet* 1995; 11: 241-247.
21. Chagnon YC, Perusse L, Bouchard C. The human obesity gene map: the 1997 update. *Obes Res* 1998; 6: 76-92.
22. Duggirala R, Stern MP, Mitchell BD, Reinhart LJ, Shipman PA, Uresandi OC et al. Quantitative variation in obesity-related traits and insulin precursors linked to the OB gene region on human chromosome 7. *Am J Hum Genet* 1996; 59: 694-703.
23. Bouchard C, Perusse L, Chagnon YC, Warden C, Ricquier D. Linkage between markers in the vicinity of the uncoupling protein 2 gene and resting metabolic rate in humans. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1887-1889.
24. Argyropoulos G, Brown AM, Peterson R, Likes CE, Watson DK, Garvey T. Structure and organization of the uncoupling protein 2 gene and identification of a common biallelic variant in Caucasian and African American subjects. *Diabetes* 1998; 47: 685-687.
25. Norman RA, Thompson DB, Foroud T, Garvey WT, Bennett PH, Bogardus C et al. Genomewide search for genes influencing percent body fat in Pima Indians: suggestive linkage at chromosome 11q21-q22. *Diabetes Gene Group. Am J Hum Genet* 1997; 60: 166-173.
26. 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. *Nature Genet* 1997; 15: 273-276.
27. Michaud EJ, Mynatt RL, Miltenberger RJ, Klebig ML, Wilkinson JE, Zemmel MB et al. Role of the agouti gene in obesity. *J Endocrinol* 1997; 155: 207-209.
28. Seeley RJ, Yagaloff KA, Fisher SL, Burn P, Thiele TE, Dijk G et al. Melanocortin receptors in leptin effects. *Nature (Lond)* 1997; 390: 349.
29. 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: 304-308.
30. 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: 643-644.
31. Comuzzie AG, Allison DB. The Search for Human Obesity Genes. *Science* 1998; 280: 1374-1377.
32. Chagnon YC, Perusse L, Weisnagel SJ, Rankinen T, Bouchard C. The human obesity gene map: the 1999 update. *Obes Res* 2000; 8: 89-117.
33. Barsh GS, Froogi IS, O'Rahilly S. Genetics of body-weight regulation. *Nature (Lond)* 2000; 404: 644-650.
34. Ohta T, Gray TA, Rogan PK, Buiting K, Gabriel JM, Saitoh S et al. Imprinting-mutation mechanism in Prader-Willi syndrome. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 397-413.
35. Kolehmainen J, Norio R, Kiviti-Kallio S, Tahvanainen E, De la Chapelle A, Lehesjoki AE. Refined mapping of the Cohen syndrome gene by linkage disequilibrium. *Eur J Hum Genet* 1997; 5: 206-213.
36. Russell-Eggitt IM, Clayton PT, Coffey R, Kriss A, Taylor DS, Taylor JF. Alstrom syndrome. Report of 22 cases and literature review. *Ophthalmology* 1998; 105: 1274-1280.
37. Beales PL, Warner AM, Hitman GA, Thakker R, Flintner FA. Bardet-Biedl syndrome: a molecular and phenotypic study of 18 families. *J Med Genet* 1997; 34: 92-98.
38. Bruford EA, Riise R, Teague PW, Porter K, Thomson KL, Moore AT et al. Linkage mapping in 29 Bardet-Biedl syndrome families confirms loci in chromosomal regions 11q13, 15q22.3-q23 and 16q21. *Genomics* 1997; 41: 93-99.
39. Mathews KD, Ardinger HH, Nishimura DY, Buetow KH, Murray JC, Bartley JA. Linkage localization of Borjeson-Forssmann-Lehmann syndrome. *Am J Med Genet* 1989; 34: 470-474.
40. Cuatrecasas G, Formiguera X, Foz M. Avances en la base genética de la obesidad. *Med Clin (Barc)* 1999; 112: 664-668.
41. Macho Azcárate T, Martí del Moral A, Martínez Hernández JA. Estudios genéticos de la obesidad en humanos. *Med Clin (Barc)* 2000; 115: 103-110.
42. Auwerx J, Staels B. Leptin. *Lancet* 1998; 351: 737-742.
43. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature (Lond)* 1994; 372: 425-432.
44. Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 1998; 18: 213-215.
45. 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 human. *Nature (Lond)* 1997; 387: 903-908.
46. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334: 292-295.
47. Bahary N, Leibel RL, Joseph L, Friedman JM. Molecular mapping of the mouse db mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 8642-8646.
48. Tartaglia LA, Demski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995; 83: 1263-1271.
49. Clément K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto DA et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature (Lond)* 1998; 392: 398-401.
50. Roth H, Korn T, Rosenkranz K, Hinney A, Ziegler A, Kunz J et al. Transmission disequilibrium and sequence variants at the leptin receptor gene in extremely obese German children and adolescents. *Hum Genet* 1998; 103: 540-547.
51. Bray GA, York DA. Genetically transmitted obesity in rodents. *Physiol Rev* 1971; 51: 598-646.
52. Smith AJ, Funder JW. Proopiomelanocortin processing in the pituitary, central nervous system and peripheral tissues. *Endocrinol Rev* 1988; 9: 159-179.
53. Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Gruters A. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet* 1998; 19: 155-157.
54. Echwald SM, Sorensen TIA, Tybjaerg-Hansen A, Clausen JO, Pedersen O. Mutational analysis of the proopiomelanocortin gene in Caucasians with early onset obesity. *Int J Obes Relat Met Disord* 1999; 23: 293-298.
55. Yeo GS, Farooqi IS, Aminian S, Halsall DJ, Stanhope RG, O'Rahilly S. A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nat Genet* 1998; 20: 111-112.
56. Hinney A, Schmidt A, Nottetbom K, Heibult O, Becker I, Ziegler A et al. Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1483-1486.
57. Vaisse C, Clément K, Guy-Grand B, Froguel P. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat Genet* 1998; 20: 113-114.
58. Sina M, Hinney A, Ziegler A, Neupert T, Mayer H, Siegfried W et al. Phenotypes in three pedigrees with autosomal dominant obesity caused by haploinsufficiency mutations in the melanocortin-4 receptor gene. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 1501-1507.
59. Brand MD, Brindle KM, Buckingham JA, Harper JA, Rolfe DF, Stuart JA et al. The significance and mechanism of mitochondrial proton conductance. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23 (Supl 6): S4-S11.
60. Klingenberg M, Huang SG. Structure and function of the uncoupling protein from brown adipose tissue. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1415: 271-296.
61. Fleury C, Neverona M, Collins S, Raimbault S, Champigny O, Leve-Meyrueis C et al. Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat Genet* 1997; 15: 269-272.
62. Vidal-Puig A, Solanes G, Gruijic D, Flier JS, Lowell BB. UCP3: An uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 235: 79-82.
63. Clément 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 B3-adrenergic-receptor gene in weight gain in morbid obesity. *Int J Obes Relat Met Disord* 1996; 20: 1062-1066.
64. Fogelholm M, Valve R, Kukkonen-Harjula K, Nenonen A, Hakkarainen V, Laakso M et al. Additive effects of the mutations in the B3-adrenergic receptor and uncoupling protein-1 genes on weight loss and weight maintenance in Finnish women. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4246-4250.
65. Argyropoulos G, Brown AM, Willi SM, Zhu J, He Y, Reitman M et al. Effects of mutations in the human uncoupling protein 3 gene on the respiratory quotient and fat oxidation in severe obesity and type 2 diabetes. *J Clin Invest* 1998; 102: 1345-1351.
66. Oberklofer H, Lin YM, Esterbauer H, Hell E, Krempler F, Patsch W. Uncoupling protein-2 gene: reduced mRNA expression in intraperitoneal adipose tissue of obese humans. *Diabetologia* 1998; 41: 940-946.
67. Oberklofer H, Dallinger G, Lin YM, Hell E, Krempler F, Patsch W. Uncoupling protein gene: quantification of expression levels in adipose tissues of obese and non obese humans. *J Lipid Res* 1997; 38: 2125-2133.
68. Walston J, Silver K, Bogardus C, Knowler WC, Celi FS, Austin S et al. Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor gene. *N Engl J Med* 1995; 333: 343-347.
69. Widen E, Lehto M, Kanninen T, Walston J, Shuldiner AR, Groop LC. Association of a polymorphism in the insulin resistance syndrome in Finns. *N Engl J Med* 1995; 333: 348-351.
70. Hoffstedt J, Poirier O, Thörne A, Lönnqvist F, Herrmann SM, Cambien F et al. Polymorphisms of the human B-adrenoceptor gene forms a wellconserved haplotype that is associated with moderate obesity and altered receptor function. *Diabetes* 1999; 48: 203-205.
71. Nagase T, Aoki A, Yamamoto M, Yasuda H, Kado S, Nishikawa M et al. Lack of association between the Trp64Arg mutation in the B3-adrenergic-receptor gene and obesity in Japanese Men: a longitudinal analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1284-1287.
72. Shiwa K, Gao TQ, Isobe A, Fukushima T, Yamane Y. A Trp64Arg mutation in the B3-adrenergic receptor gene is not associated with moderate overweight in Japanese workers. *Metabolism* 1998; 47: 1528-1530.
73. Büettner R, Schäffler A, Arndt H, Rogler G, Nusser J, Zietz B et al. The Trp64Arg polymorphism of the B3-adrenergic receptor gene is not associated with obesity or type 2 diabetes mellitus in a large population based Caucasian cohort. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2892-2897.

74. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, Ogihara T. Meta-Analysis of the association of Trp64Arg polymorphism of $\beta 3$ -adrenergic receptor gene with body mass index. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2441-2444.
75. Mori Y, Kim-Motoyama H, Ito Y, Katakura T, Yasuda K, Ishiyama-Shigemoto S et al. The Gln27Glu $\beta 2$ -adrenergic receptor variant is associated with obesity due to subcutaneous accumulation in Japanese men. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 258: 138-140.
76. Naggert JK, Fricker LD, Varlamov O, Nishina PM, Rouille Y, Steiner DF et al. Hyperproinsulinaemia in obese fat/mice associated with a carboxypeptidase E mutation which reduces enzyme activity. *Nat Genet* 1995; 10: 135-142.
77. Jackson RS, Creemers JWM, Ohagi S, Raffin-Sanson ML, Sanders L, Montague CT et al. Obesity and impaired prohormone convertase 1 gene. *Nat Genet* 1997; 16: 303-306.
78. Vaddi K, Nicolini FA, Mehta JL. Increased secretion of tumour necrosis factor- α and interferon gamma by mononuclear leukocytes in patients with ischemic heart disease: relevance in superoxide anion generation. *Circulation* 1995; 90: 694-699.
79. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumour necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995; 95: 2409-2415.
80. Hotamisligil GS, Shargil NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumour necrosis factor- α ; direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259: 87-91.
81. Herrmann SM, Ricard S, Nicaud V, Mallet C, Arveiler D, Evans et al. Polymorphism of the tumour necrosis factor- α gene, coronary heart disease and obesity. *Int J Obes Relat Met Disord* 1998; 29: 59-66.
82. Hotamisligil GS, Arner P, Atkinson RL, Spiegelman BM. Differential regulation of the p80 tumour necrosis factor receptor in human obesity and insulin resistance. *Diabetes* 1997; 46: 451-455.
83. Hwang CS, Mandrup S, McDougal OA, Geiman DE, Lane MD. Transcriptional activation of the mouse obese (ob) gene by CAA/enhancer binding protein α . *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 873-877.
84. Ristow M, Müller-Wieland D, Pfeiffer A, Krone W, Khan R. Obesity associated with a mutation in a genetic regulator of adipocyte differentiation. *N Engl J Med* 1998; 339: 953-959.
85. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamäki J, Mykkänen L, Kuusisto J et al. A Pro12Ala substitution in PPAR $\gamma 2$ associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 1998; 20: 284-287.
86. Holst JJ. Glucagon like peptide 1: a newly discovered gastrointestinal hormone. *Gastroenterology* 1994; 107: 1848-1855.
87. Larsen PJ, Tang-Christensen M, Jessop DS. Central administration of glucagons-like peptide-1 activates hypothalamic neuroendocrine neurons in the rat. *Endocrinology* 1997; 138: 4445-4455.
88. Shalev A, Vosmeer S, Keller U. Absence of Short-term effects of glucagons-like peptide-1 and of hyperglycemia on plasma leptin levels in man. *Metabolism* 1997; 46: 723-725.
89. Edholm OG. Energy balance in man. *J Human Nutr* 1977; 31: 413-431.
90. Kennedy GC. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond B* 1953; 140: 579-592.
91. Gibbs J, Young R, Smith GP. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J Comp Physiol Psychol* 1973; 84: 488-495.
92. Woods SC, Seeley RJ, Porte D, Schwartz MW. Signals That Regulate Food Intake And Energy Homeostasis. *Science* 1998; 280: 1378-1383.
93. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature (Lond)* 2000; 404: 661-671.
94. Campfield L, Smith F, Gulsez Y, Devos R, Burn P. Mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 1995; 269: 546-549.
95. Bjorbaek C, Elmquist JK, Michl P, Ahima RS, Van Bueren A, McCall AL et al. Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels. *Endocrinology* 1998; 139: 3485-3491.
96. Caro JF, Kolaczynski JW, Nycze MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* 1996; 348: 159-161.
97. Bjorbaek C, Elmquist J, Frantz J, Shoelson S, Flier J. Identification of SOCS-3 as a potential mediator of central leptin resistance. *Mol Cell* 1998; 1: 619-625.
98. Zarjevski N, Cusin I, Vetter R, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. Chronic intracerebroventricular neuropeptide-Y administration to normal rats mimics hormonal and metabolic changes of obesity. *Endocrinology* 1993; 133: 1753-1758.
99. White JD, Kershaw M. Increased hypothalamic neuropeptide Y expression following food deprivation. *Mol Cell Neurosci* 1989; 1: 41-48.
100. Schwartz MW, Baskin DG, Bukowski TR, Kuijper JL, Foster D, Lasser G et al. Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. *Diabetes* 1996; 45: 531-535.
101. Green PK, Wilkinson CW, Woods SC. Intraventricular corticosterone increases the rate of body weight gain in underweight adrenalectomized rats. *Endocrinology* 1992; 130: 269-275.
102. Zakrzewska KE, Cusin I, Sainsbury A, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. Glucocorticoids as counterregulatory hormones of leptin: toward an understanding of leptin resistance. *Diabetes* 1997; 46: 717-719.
103. DeLecea, Kilduff TS, Peyron C, Gao X, Foye PE, Danielson PE et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 322-327.
104. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998; 92: 573-585.
105. Fan W, Boston B, Kesterson R, Hruby V, Cone R. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature (Lond)* 1997; 385: 165-168.
106. Schwartz MW, Seeley RJ, Woods SC, Weigle DS, Campfield LA, Burn P. Leptin increases hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA expression in the rostral arcuate nucleus. *Diabetes* 1997; 46: 2119-2123.
107. Cheung CC, Clifton DK, Steiner RA. Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology* 1997; 138: 4489-4492.
108. Huszar D, Lynch CA, Fairchild-Huntress V, Dunmore JH, Fang Q, Berkemeier LR et al. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell* 1997; 88: 131-141.
109. Graham M, Shutter JR, Sarmiento U, Sarosi I, Stark KL. Overexpression of AgRP leads to obesity in transgenic mice. *Nat Genet* 1997; 17: 273-274.
110. Ollmann MM, Wilson BD, Yang YK, Kerns JA, Chen Y, Gantz Barsh GS. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science* 1997; 278: 135-138.
111. Spina M, Merlo-Pich E, Chan RK, Basso AM, Rivier J, Vale W. Appetite-suppressing effects of urocortin, a CRF-related neuropeptide. *Science* 1996; 273: 1561-1564.
112. Flier JS, Maratos-Flier E. Obesity and the hypothalamus: novel peptides for new pathways. *Cell* 1998; 92: 437-440.
113. Schwartz MW, Seeley RJ. Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center. Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. *N Engl J Med* 1997; 336: 1802-1811.
114. Kow L, Pfaff D. The effects of the TRH-metabolite cyclo (His-Pro) and its analogs on feeding. *Pharmacol Biochem Behav* 1991; 38: 359-364.
115. Kristensen P, Judge ME, Thim L, Ribel U, Christiansen KN, Wulff BS et al. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature (Lond)* 1998; 393: 72-76.
116. Luheshi G, Gardner J, Rushforth D, Loudon A, Rothwell N. Leptin actions on food intake and body temperature are mediated by IL-1. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1999; 96: 7047-7052.
117. Hahn T, Breininger J, Baskin D, Schwarz M. Coexpression of AgRP and NPY in fasting-activated hypothalamic neurons. *Nature Neurosci* 1998; 1: 271-272.
118. Elias CF, Lee C, Kelly J, Aschkenasi C, Ahima RS, Couceyro PR et al. Leptin activates hypothalamic CART neurons projecting to the spinal cord. *Neuron* 1998; 21: 1375-1385.
119. Elmquist J, Maratos-Flier E, Saper C, Flier J. Unraveling the central nervous system pathways underlying responses to leptin. *Nature Neurosci* 1998; 1: 445-450.
120. Shimada M, Tritos N, Lowell B, Flier J, Maratos-Flier E. Mice lacking melanin-concentrating hormone are hypophagic and lean. *Nature (Lond)* 1998; 39: 670-674.
121. Chambers J, Ames RS, Bergsma D, Muir A, Fitzgerald LR, Hervieu G et al. Melanin-concentrating hormone is the cognate ligand for the orphan G-protein-coupled receptor SLC-1. *Nature* 1999; 400: 261-265.
122. Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C et al. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 1999; 98: 437-451.
123. Grill H, Smith G. Cholecystokinin decreases sucrose intake in chronic decerebrate rats. *Am J Physiol* 1988; 254: R853-R856.
124. Emond M, Schwarz G, Ladenheim E, Moran T. Central leptin modulates behavioral and neural responsivity to CCK. *Am J Physiol* 1999; 276: R1545-R1549.
125. Oltmans G, Norepinephrine and dopamine levels in hypothalamic nuclei of the genetically obese mouse (ob/ob). *Brain Res* 1983; 273: 369-373.
126. Nonogaki K, Strack A, Dallman M, Tecott L. Leptin-independent hyperphagia and type 2 diabetes in mice with a mutated serotonin 5-HT_{2c} receptor gene. *Nat Med* 1998; 4: 1152-1156.
127. Calapai G, Corica F, Corsonello A, Sautebin L, Di Rosa M, Campo GM et al. Leptin increases serotonin turnover by inhibition of brain nitric oxide synthesis. *J Clin Invest* 1999; 104: 975-982.
128. Lowell BB, Spiegelman BM. Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature (Lond)* 2000; 404: 652-660.
129. Bouchard C, Tremblay A, Despres JP, Nadeau A, Lupien PJ, Theriault G et al. The response to long-term overfeeding in identical twins. *N Engl J Med* 1990; 322: 1477-1482.
130. Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL, Sivitz WI. Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin. *J Clin Invest* 1997; 100: 270-278.
131. Scarpace PJ, Matheny M, Pollock BH, Turner N. Leptin increases uncoupling protein expression and energy expenditure. *Am J Physiol* 1997; 273: E226-E230.
132. Melnyk A, Himms-Hagen J. Temperature-dependent feeding lack of role for leptin and defect in brown adipose tissue-ablated obese mice. *Am J Physiol* 1998; 274: R1131-R1135.

133. Simonsen L, Bulow J, Madsen J, Christensen NJ. Thermogenic response to epinephrine in the forearm and abdominal subcutaneous adipose tissue. *Am J Physiol* 1992; 263: E850-E855.
134. Gura T. Uncoupling proteins provide new clue to obesity's causes. *Science* 1998; 280: 1369-1370.
135. Elmquist JK, Elias CF, Saper CB. From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron* 1999; 22: 221-232.
136. Strosberg AD, Pietri-Rouxel F. Function and regulation of the beta-3 adrenoceptor. *Trends Pharmacol Sci* 1996; 17: 373-381.
137. Bukowiecki LJ, Follea N, Lupien J, Paradis A. Metabolic relationships between lipolysis and respiration in rat brown adipocytes. The role of long chain fatty acids as regulators of mitochondrial respiration and feedback inhibitors of lipolysis. *J Biol Chem* 1981; 256: 12840-12848.
138. Fisher MH, Amend AM, Bach TJ, Barker JM, Brady EJ, Candelore MR et al. A selective human beta 3 adrenergic receptor agonist increases metabolic rate in rhesus monkeys. *J Clin Invest* 1998; 101: 2387-2393.
139. Garruti G, Ricquier D. Analysis of uncoupling protein and its mRNA in adipose tissue deposits of adult humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1992; 16: 383-390.
140. Guerra C, Koza RA, Yamashita H, Walsh K, Kozak LP. Emergence of brown adipocytes in white fat in mice is under genetic control. Effects on body weight and adiposity. *J Clin Invest* 1998; 102: 412-420.
141. Legrady G, Emerson CH, Ahima RS, Flier JS, Lechan RM. Leptins prevents fasting-induced suppression of prothyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acids in neurons of hypothalamic paraventricular nucleus. *Endocrinology* 1997; 138: 2569- 2576.
142. Kozak IP, Kozak UC, Clarke GT. Abnormal brown and white fat development in transgenic mice overexpressing glycerol 3-phosphate dehydrogenase. *Genes Dev* 1991; 5: 2256-2264.
143. Gugneja S, Virbasius CM, Scarpulla RC. Nuclear respiratory factors 1 and 2 utilize similar glutamine-containing clusters of hydrophobic residues to activate transcription. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 5708-5716.
144. Virbasius JV, Scarpulla RC. Activation of the human mitochondrial transcription factor A gene by nuclear respiratory factors: a potential regulatory link between nuclear and mitochondrial gene expression in organelle biogenesis. *Proc Natl Acad Sci Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 1309-1313.
145. Sears IB, MacGinnitie MA, Kovacs LG, Graves RA. Differentiation-dependent expression of the brown adipocyte uncoupling protein gene: regulation by peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 3410-3419.
146. Brun S, Carmona MC, Mampel T, Vinas O, Giralt M, Iglesias R et al. Activators of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha induce the expression of the uncoupling protein-3 gene in skeletal muscle: a potential mechanism for the lipid intake-dependent activation of uncoupling protein-3 gene expression at birth. *Diabetes* 1999; 48: 1217-1222.
147. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* 1998; 92: 829-839.
148. Wu Z, Puigserver P, Anderson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V et al. Mechanism controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* 1999; 98: 115-124.