

mórbida. Cuando catalogamos nuestra población de estudio en función de la presencia de complicaciones secundarias asociadas a la obesidad, los niveles de leptina ajustados por las diferencias de adiposidad, no fueron significativamente diferentes entre grupos (ver artículo 1). Lonnqvist y colaboradores habían observado también una pérdida de la relación existente entre la leptina plasmática y distintos marcadores de riesgo cardiovascular, sugiriendo que la leptina podría desempeñar un papel protector sobre algunas de las alteraciones metabólicas frecuentemente asociadas a la obesidad (Lonnqvist 1997). No obstante, en el caso de nuestro estudio, no podemos afirmar que la leptina juegue un papel frente a la protección metabólica ya que las relaciones observadas entre los niveles de leptina y los distintos marcadores de riesgo son atribuibles al efecto de la adiposidad, puesto que estas relaciones desaparecen tras ajustar por la masa grasa del paciente.

Puesto que la liberación de la leptina en plasma sigue un patrón pulsátil, estandarizamos el momento de la extracción entre las 8:00 y la 9:00 h, de modo que los niveles de leptina deberían situarse entre el 30-40% del pico máximo de liberación (Wallace 2000). Por tanto, las diferencias que hemos observado no pueden atribuirse a diferentes periodos del ritmo circadiano de la leptina. Sin embargo, un aspecto criticable del estudio referido a la leptina es el propio método de determinación analítica de esta sustancia. Mediante el radioinmunoensayo comercial utilizado se determina la totalidad de la leptina circulante, independientemente de si ésta se encuentra formando complejos con proteínas de transporte (principalmente receptores solubles de leptina) o bien circula libremente en sangre. Un estudio publicado en 1996 en el cual se observaba que en los pacientes con obesidad la mayor parte de leptina circula en forma libre, mientras que los sujetos normopeso presenta una fracción mayor de leptina unida, sugería ya la existencia de ciertas diferencias en la biodisponibilidad y por tanto en la actividad de esta proteína (Sinha 1996). Recientemente, algunos estudios han puesto nuevamente de manifiesto estas diferencias atribuibles al sistema de transporte plasmático de la leptina (Brabant 2000, Widjaja 2000). No obstante, prácticamente la totalidad de los estudios realizados hasta la actualidad sobre la leptina no permiten discernir entre ambas

formas plasmáticas. Así mismo, cabe destacar que tampoco evaluamos la concentración del receptor soluble de la leptina en la población estudiada. De modo que no poseemos ninguna evidencia que permita hipotetizar acerca del posible papel que este receptor puede ejercer en la obesidad humana.

El análisis de la producción adipocitaria de oleoil-estróna, directamente influenciada por la leptina, presentó también diferencias importantes entre las pacientes obesas y delgadas. Así pues, mientras que observamos una estrecha relación entre las concentraciones plasmáticas de esta acil-estróna y el IMC en el grupo de pacientes control (IMC < 27 kg/m<sup>2</sup>), esta relación desaparecía en las pacientes con obesidad (IMC > 27 kg/m<sup>2</sup>) (ver Sección 3). El único estudio determinando las concentraciones de acil-estróna en humanos, ha sido realizado previamente sobre un grupo de 20 hombres y 22 mujeres con un índice de masa corporal de 16 a 38 kg/m<sup>2</sup>, no permitiendo por ello, observar el comportamiento de la oleoil-estróna en el rango de la obesidad mórbida. Los autores de este estudio observaron también una relación significativa entre estos dos parámetros tanto en varones como en mujeres (Fernández-Real 1999)

Nosotros pudimos observar que las pacientes que presentaban sobrepeso u obesidad mostraban también unos niveles de acil-estróna inferiores a los esperados en función del peso de la paciente. Estos menores niveles de oleoil-estróna plasmática podrían tal vez atribuirse, al menos en las pacientes con obesidad mórbida, a la disminución en la producción adipocitaria de leptina que previamente hemos descrito en este tipo de pacientes. Sin embargo, este mecanismo no permitiría explicar la menor producción de oleoil-estróna que presentan también las mujeres con obesidad moderada respecto a las controles.

Puesto que no existen en bibliografía estudios similares realizados en humanos que permitan contrastar nuestros resultados, nos resulta sumamente difícil evaluar el verdadero papel de la oleoil-estróna en la obesidad humana. No obstante, ya que algunos estudios realizados *in vitro* y sobre animales de experimentación atribuyen a la oleoil-estróna ciertas propiedades

catabólicas como por ejemplo la estimulación de la lipólisis o el incremento de la capacidad termogénica, mediada sobretudo por la estimulación de la UCP-3 (Yubero 1998), podría considerarse que la menor producción de esta sustancia contribuiría al desarrollo de la obesidad humana. De todos modos, los resultados de este estudio no permiten, de ninguna manera, conocer si la disminución de la oleoil-estróna es causa o consecuencia de la misma obesidad.

## *2. ¿Son la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2 factores determinantes de la expresión y síntesis del sistema del TNF $\alpha$ , la leptina y la oleoil-estróna?*

La pacientes que presentaban diabetes tipo 2 mostraron niveles superiores de ambas formas de receptores solubles de TNF $\alpha$ , incluso tras ajustar por las diferencias de adiposidad. Así mismo, las concentraciones de ambos receptores solubles se relacionaron positivamente con la insulina y con el grado de resistencia a la insulina determinado mediante el HOMA IR. De hecho, el IMC y la presencia de diabetes permitieron explicar el 20% de la variabilidad observada para estos receptores de TNF $\alpha$  (ver Sección 3).

Un estudio previo realizado en humanos había ya descrito una relación positiva entre la concentración plasmática de insulina y la expresión del receptor TNFR2 (Hotamisligil 1997). Así mismo, el sTNFR2 plasmático se asociaba negativamente con la sensibilidad a la insulina (Fernández-Real 1998). En el primer estudio en el cual se evaluaron conjuntamente ambos tipos de receptores solubles de TNF $\alpha$  no se observaron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de ambos receptores solubles en función de la presencia o ausencia de diabetes. (Hauer 1998). De modo que, nuestro estudio es el único realizado hasta el momento que evalúa el efecto de la diabetes tipo 2 sobre los niveles plasmáticos de ambas formas solubles de receptores de TNF $\alpha$  en un grupo de mujeres distribuidas en un amplio rango de adiposidad y clasificadas en función de la presencia de esta metabolopatía asociada. Estos resultados

apoyan la hipótesis de que el sistema del TNF $\alpha$  puede desempeñar un papel importante en la etiopatogenia de la diabetes tipo 2, independientemente del grado de obesidad del paciente. Sin embargo a pesar de que pudimos observar también una mayor expresión adipocitaria de TNF $\alpha$  en los pacientes que presentaban diabetes independientemente del grado de obesidad, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Por otro lado, tampoco observamos ninguna relación entre la expresión adipocitaria de esta citoquina y las concentraciones plasmáticas de insulina o el HOMA IR (ver Sección 4). Estos resultados se añaden a las discrepancias que existen actualmente en la bibliografía acerca de cuál es la relación entre TNF $\alpha$  y la resistencia a la insulina o la diabetes tipo 2 en el hombre (Myers 1993, Ofei 1996, Bulló 1999).

Los resultados obtenidos en algunos estudios han sugerido que la insulina y la leptina podrían formar parte de un sistema de contraregulación (Remesar 1997). Así pues, mientras que la insulina es capaz de modular las concentraciones de leptina (Saladin 1995, Kolaczynski 1996), ésta última es también capaz de modular los niveles circulantes de insulina mediante diversos mecanismos (Emilsson 1997, Kieffer 1997, Mizuno 1998). Si bien estos mecanismos están ampliamente demostrados en modelos animales, la relación en el hombre es todavía controvertida. Nuestras pacientes mostraron una relación positiva entre la concentración plasmática de leptina y los niveles de insulina, sin embargo, esta relación desaparecía tras ajustar la leptina por las diferencias en la masa grasa. Contrariamente, otros autores habían observado una relación positiva y significativa entre la leptina y la insulina, incluso tras ajustar las concentraciones de leptina por las diferencias de adiposidad corporal (Nyholm 1997, Stolk 1997, Zimmet 1998). Las limitaciones inherentes a la estimación de la grasa corporal mediante impedancia bioeléctrica tetrapolar podrían explicar estas discrepancias. No obstante, otros estudios en los cuales la determinación de la composición corporal había sido determinada también por impedancia (Larsson 1996), mediante DEXA (Kohrt 1996) o bien a través de densitometría por infrarrojos (Turpeinen 1997), han observado resultados similares a los nuestros. Así mismo, a pesar de que el modelo utilizado para determinar la sensibilidad a la



insulina (HOMA IR) no deja de ser un método de estimación indirecta, algunos de los estudios que contradicen nuestros resultados habían también utilizado este modelo (Zimmet 1997).

De modo que, puesto que tampoco observamos ninguna variación en los niveles de leptina ajustados por la masa grasa en función de presentar o no diabetes tipo 2, nuestros resultados no apoyan la hipótesis de que la resistencia a la insulina sea un factor determinante de la producción de leptina.

Clement y colaboradores, en un estudio realizado sobre una amplia serie de pacientes con obesidad mórbida, tampoco observaron diferencias en las concentraciones de leptina entre pacientes normoglicémicos, intolerantes a la glucosa o diabéticos. No obstante aquellos pacientes que presentaban un mal control de la diabetes eran hipoleptinémicos (Clement 1997), sugiriendo pues que es, en realidad, esta descompensación metabólica la que puede modular los niveles circulantes de leptina. La asociación inversa que observamos entre la leptina y la glucosa, independientemente del grado de adiposidad de la paciente, así como los menores niveles de leptina que observamos en las 4 pacientes que presentaron un mal control de la diabetes, apoyarían esta hipótesis. Sin embargo, cabe señalar que nuestros resultados no se modificaron en absoluto, tras excluir del análisis estadístico estas pacientes mal controladas.

Al igual que sucede con la leptina plasmática, la expresión adipocitaria de esta proteína se relacionó positivamente con la insulina y con el HOMA IR ( $r=0,293$   $p<0,001$ ;  $r=0,264$   $p<0,05$  respectivamente) en toda la población de estudio, a pesar de que estos resultados no se reflejan en los artículos presentados. No obstante, no se observaron diferencias significativas en la expresión adipocitaria de leptina en función de presentar o no diabetes tipo 2 asociada. Puesto que prácticamente todas las pacientes diabéticas presentaban un buen control glicémico en el momento de estudio no fue posible evaluar su efecto sobre la expresión adipocitaria de leptina.

En relación a la oleoil-estrona no pudimos observar diferencias significativas entre dos grupos de pacientes con un IMC > 27 kg/m<sup>2</sup> que diferían en los niveles circulantes de insulina (ver artículo 2). No obstante, el mayor grado de obesidad que presentaban las pacientes hiperinsulinémicas, aún no siendo significativo, podría ser un factor confusor importante en el momento de evaluar el verdadero efecto de la insulina sobre los niveles plasmáticos de oleoil-estrona, sobretodo si consideramos que la obesidad mórbida pueda asociarse a un defecto en la producción de estos ésteres de estrona, como previamente se ha sugerido. Puesto que este es el primer estudio realizado en humanos que pretende evaluar el efecto que ejercen tanto el grado de adiposidad como los niveles de insulina sobre la conversión de la estrona libre a oleoil-estrona en el tejido adiposo humano, los resultados obtenidos no han podido ser contrastados con la bibliografía. Por otro lado, tampoco existen evidencias experimentales realizadas in vitro o in vivo sobre animales de experimentación que nos permitan conocer cuál es el posible efecto de la insulina sobre la producción de oleoil-estrona.

### *3. ¿Cuál es el efecto del grado de adiposidad y de la resistencia a la insulina sobre la actividad LPL adipocitaria?*

Los efectos metabólicos del TNF $\alpha$  sobre el adipocito han sido ampliamente estudiados en cultivos celulares y sobre animales de experimentación. Así por ejemplo, la regulación de la actividad de la lipoproteína lipasa adipocitaria se ha descrito como un mecanismo de control ponderal mediado por el TNF $\alpha$  (Grunfeld 1989, Fried 1989). No obstante, no existen prácticamente estudios realizados en humanos que evalúen esta actividad enzimática en relación al TNF $\alpha$  y a la obesidad.

A pesar de que las mujeres obesas mostraron una mayor actividad lipoproteína lipasa adipocitaria respecto al grupo control, estas diferencias no fueron significativas. Sin embargo, el índice de masa corporal y la expresión adipocitaria de TNF $\alpha$  fueron los únicos factores

predictores de la variabilidad observada en la actividad LPL (ver Sección 4). La relación inversa observada entre la expresión de TNF $\alpha$  y la actividad LPL adipocitaria había sido previamente descrita por Kern y colaboradores en un grupo de 39 pacientes obesos no diabéticos (Kern 1995). Estos autores sugirieron que la obesidad mórbida podría atribuirse, al menos en parte, a la mayor actividad LPL que presentaban estos pacientes provocada por la disminución en la expresión del TNF $\alpha$  adipocitario asociada. En nuestro estudio, las pacientes con obesidad mórbida no mostraron un incremento de la actividad LPL cuando se comparaban con las mujeres con obesidad moderada, sugiriendo que el papel protector referido a esta modulación enzimática se mantiene incluso en los rangos altos de adiposidad (ver Sección 4).

A pesar de la compleja regulación de la LPL y de las discrepancias que existen en la bibliografía sobre el posible efecto inductor de la insulina, algunos estudios han sugerido que pueden existir también otros mecanismos reguladores independientes de insulina, entre ellas el TNF $\alpha$ . Para evaluar el papel de la diabetes tipo 2 sobre la actividad lipoproteína lipasa clasificamos a nuestras pacientes en función de presentar o no esta metabolopatía. Si bien el grupo de mujeres diabéticas mostró una mayor actividad LPL, ésta no difería significativamente respecto a las mujeres no diabéticas. Por tanto, los resultados obtenidos de este estudio apoyarían la hipótesis de que el control de la adiposidad corporal mediado por el TNF $\alpha$  puede ser debido a la inhibición de la actividad LPL adipocitaria independiente de insulina, y que además este mecanismo protector se mantiene incluso en las mujeres con obesidad mórbida.

#### *4. ¿Qué relación se establece entre el sistema del TNF $\alpha$ y la leptina?*

Parece razonable pensar que nuestro organismo ha dispuesto una compleja red de sustancias, vías y mecanismos, todos ellos relacionados entre sí y dirigidos a mantener un riguroso control ponderal. Las similitudes funcionales observadas entre la leptina y el TNF $\alpha$  sugieren que muy

probablemente deba existir un sistema TNF $\alpha$ -leptina relacionado con la fisiopatología de la obesidad y la resistencia a la insulina asociada. Diversas evidencias apoyarían esta hipótesis. Por un lado, ambas sustancias se sintetizan en el tejido adiposo y son capaces de modular la ingesta y el gasto energético, al menos en modelos animales de obesidad. Por otro lado, las concentraciones de ambas proteínas responden a variaciones en el tamaño del tejido adiposo debidas a una pérdida ponderal y la posterior recuperación ponderal. No obstante, al inicio de este estudio, no habían trabajos publicados que relacionaran en modo alguno, ambas sustancias.

Las concentraciones plasmáticas de leptina se relacionaron positivamente con los niveles plasmáticos de ambos tipos de receptores solubles del TNF $\alpha$ , de hecho, esta proteína se comportaba como un buen factor predictor de la variabilidad observada en las concentraciones de sTNFR (ver artículo 3). También a nivel adipocitario, la expresión de TNF $\alpha$  se relacionó positivamente con la expresión de leptina. Así pues, a pesar de que el diseño de este estudio no permite identificar los mecanismos moleculares que se establecen entre ambas sustancias, son un evidencia indirecta que apoyaría la existencia de un sistema efector TNF $\alpha$ -leptina relacionado con la obesidad y la diabetes tipo 2. Estos resultados son coherentes con algunas observaciones realizadas in vitro e in vivo que atribuyen al TNF $\alpha$  un efecto modulador de la expresión, síntesis y liberación de leptina (Kirchgessner 1997, Zumbach 1997, Medina 1999, Fawcett 2000).

##### *5. ¿Se asocia la obesidad a un estado inflamatorio del tejido adiposo?*

Debido al creciente interés que la inflamación está adquiriendo en la obesidad humana nos planteamos analizar los parámetros inflamatorios que hasta el momento habíamos evaluado en todas nuestras pacientes. A pesar de que no disponemos todavía de las determinaciones de IL-6 ni de proteína C reactiva, el análisis estadístico de otras proteínas relacionadas con la

reacción inflamatoria de fase aguda, como la albúmina, el fibrinógeno y la velocidad de sedimentación globular, así como el recuento leucocitario sustentarían la hipótesis de que la obesidad humana pueda asociarse a un estado inflamatorio del organismo. No obstante, el posible papel inductor o protector que esta respuesta inflamatoria crónica puede desempeñar en la obesidad o en las metabopatías asociadas tampoco puede derivarse de un estudio de estas características.

### ***En conclusión,***

Los resultados derivados de esta tesis sustentan la hipótesis de que el incremento en la producción de los diversos componentes del sistema del TNF $\alpha$  que se asocia a la obesidad, debería ser considerado como un sistema protector que actuaría frenando el incremento ponderal y que este sistema se mantendría activado incluso en aquellos pacientes que presentan obesidad severa. De hecho, algunos mecanismos como la inhibición de la actividad LPL, la activación de la lipólisis, y la inducción de la resistencia a la insulina, claramente dirigidos a disminuir el tamaño de las reservas grasas, se han relacionado con la expresión y la actividad de esta citoquina. En este sentido, la relación inversa que observamos entre la expresión adipocitaria de TNF $\alpha$  y la actividad LPL y la relación positiva entre la actividad del sistema TNF $\alpha$  (receptores solubles plasmáticos y expresión TNF $\alpha$  en adipocito) y la resistencia a la insulina, apoyarían esta hipótesis.

Por otro lado, el mecanismo protector atribuible a la leptina, y a la oleoil-estrona, al menos en la población general, no parece mantenerse en la obesidad mórbida. Sin embargo, el diseño transversal de nuestro estudio, no permite determinar cuál es la trascendencia del fracaso observado en la producción adipocitaria de leptina en el desarrollo de la obesidad mórbida y las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad.

No obstante, para evaluar la trascendencia de estos resultados sobre la etiología de la obesidad y la diabetes asociada, se requieren estudios longitudinales realizados sobre poblaciones amplias, bien tipificadas en lo que se refiere a su obesidad, y controladas desde una perspectiva metabólica, bioquímica y molecular, respecto a los diferentes parámetros probablemente involucrados en el desarrollo de la obesidad, como por ejemplo, la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2.

## CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES

1. Las concentraciones plasmáticas de leptina en las pacientes con obesidad mórbida no son un buen reflejo del tamaño de las reservas grasas, de modo que otros factores independientes del grado de adiposidad deben involucrarse en la regulación de los niveles circulantes de leptina. Si este efecto es debido a una distorsión en la producción de leptina o un mecanismo adaptativo dirigido a prevenir posteriores ganancias ponderales está todavía por dilucidar.
2. Los niveles de oleoil-estróna, y probablemente su función, disminuyen en la obesidad, contrastando con la relación leptina-índice de masa corporal. El papel de la insulina en el control ponderal mediado por la acyl-estróna debe ser revisado.
3. Los receptores solubles de TNF $\alpha$  incrementan en la obesidad y la diabetes como un reflejo del grado de adiposidad y de la resistencia a la insulina asociada. Las asociaciones independientes entre los receptores solubles de TNF $\alpha$  y la leptina en los pacientes obesos apoyan la hipótesis de que estas proteínas están involucradas en la patofisiología de la obesidad.
4. Las mujeres obesas sobreexpresan el TNF $\alpha$  incluso en los rangos altos de adiposidad y esta sobreexpresión es independiente de la presencia de diabetes tipo 2. Las relaciones entre la expresión del TNF $\alpha$ , la producción de leptina y la actividad LPL adipocitaria apoyan la hipótesis de que el sistema del TNF $\alpha$  es un mecanismo homeostático dirigido a limitar la expansión grasa.



5. La obesidad humana responde a un proceso inflamatorio del tejido adiposo capaz de inducir una respuesta periférica de fase aguda, independientemente de la presencia de diabetes tipo 2.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LA ADIPOSIDAD SOBRE EL SISTEMA TNF $\alpha$ -LEPTINA

Mònica Bulló Bonet

ISBN: 978-84-691-1902-0/DL: T-355-2008

## BIBLIOGRAFÍA

## BIBLIOGRAFÍA

Accili D, Frapier C, Mosthaf L, McKeon C, Elbein SC, Permutt MA, Ramos E, Lander E, Ullrich A, Taylor SI. A mutation in the insulin receptor gene that impairs transport of the receptor to the plasma membrane and causes insulin-resistant diabetes. *EMBO J* 1989; 8: 2509-2517.

Aderka D, Engelmann H, Maor Y, Brakebush C, Wallach D. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med* 1992; 175: 323-329.

Ailhaud G, Grimaldi P, Négrel R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Ann Rev Nutr* 1992; 12: 207-233.

Ailhaud G. Obesity and the adipocyte. Molecular mechanisms of adipocyte differentiation. *J Endocrinology* 1997; 155: 201-202.

Almind K, Bjorbaek C, Vestergaard H, Hansen T, Echwald S, Pedersen O. Aminoacid polymorphisms of insulin receptor substrate-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1993; 342: 828-832.

Álvarez Torices JC, Franch Nadal J, Alvarez Guisasola F, De Pablo Pons ML, Hernández Mejía R, Cueto Espinar A. La obesidad en la provincia de León. Distintos criterios, diferentes prevalencias. *Aten Primaria* 1992; 1: 1013-1018.

American Diabetes Association: Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. 1998 *Diabetes Care*. 21:S5-S19.

Appel B, Fried SK. Effects of insulin and dexamethasone on lipoprotein lipase in human adipose tissue. *Am J Physiol* 1992; 262: E695-E699.

Aranceta J, Pérez C, Orduna J, Moreno V, Gondra J. Diagnóstico de salud de la Villa de Bilbao. Población mayor de 60 años. Indicadores de salud y calidad de vida. Servicio de Salud Pública, Droga y Consumo. Excmo. Ayuntamiento de Bilbao. Bilbao 1991.

Aranceta J, Pérez C, Amela C, García Herrera R. Encuesta de Nutrición de la Comunidad de Madrid. Madrid: Consejería de Salud de la Comunidad de Madrid, 1994.

Aranceta J, Pérez C, Marzana I, Egileor I, González de Caldeano L, Sáenz de Buruaga J. Encuesta de nutrición de la Comunidad Autónoma Vasca. Tendencias de consumo alimentario, indicadores bioquímicos y estado nutricional de la población adulta. Vitoria: Servicio de Publicaciones Gobierno Vasco, 1995.

Aranceta J, Pérez Rodrigo C, Serra Majem L, Ribas L, Quiles Izquierdo J, Vioque J, Foz M. Prevalence of obesity in Spain: the SEEDO'97 study. Spanish Collaborative Group for the Study of Obesity. *Med Clin (Barc)* 1998; 111: 441-445.

Aranceta J. Epidemiología de la obesidad en los países desarrollados. *Nutr Obes* 1998; 1: 12-22.

Arase K, York DA, Shimizu H, Shargill N, Bray GA. Effects of corticotropin-releasing factor on food intake and brown adipose tissue thermogenesis in rats. *Am J Physiol* 1988; 255: E255-E259.

Ardévol A, Virgili J, Sanchis D, Adán C, Fernández-Real JM, Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. A method for the measurement of plasma estrone fatty ester levels. *Anal Biochem* 1997; 249: 247-250.

Argyropoulos G, Brown AM, Willi SM, Zhu J, He Y, Reitman M, Gevaio SM, Spruill I, Garvey WT. 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.

Arner P, Kriegholm E, Engfeldt P, Bolinder J. Adrenergic regulation of lipolysis in situ at rest and during exercise. *J Clin Invest* 1990; 85: 893-898.

Arner P. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. *Ann Med* 1995; 27: 435-438.

Arvat E, Maccario M, Di Vito L, Broglio F, Benso A, Gottero C, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E. Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1169-1174.

Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, Makino S, Fujimiya M, Niiijima A, Fujino MA, Kasuga M. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 2001; 120: 337-345.

Astrup A, Buemann B, Christensen NJ, Toubro S. Failure to increase lipid oxidation in response to increasing dietary fat content in formerly obese women. *Am J Physiol* 1994; 266: E592-E599.

Astrup A, Buemann B, Gluud C, Bennett P, Tjur T, Christensen N. Prognostic markers for diet-induced weight loss in obese women. *Int J Obes* 1995; 19: 275-278.

Bado A, Levasseur S, Attoub S, Karmorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Lehy T, Guerre-Millo M, Le Marchand-Brustel Y, Lewin MJM. The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998; 394: 290-293.

Bagdade JD, Bierman EL, Porte D. The significance of basal insulin levels in the evaluation of the insulin response to glucose in diabetic and nondiabetic subjects. *J Clin Invest* 1967; 46: 1549-1557.

Balada F, Sanchis D, Grasa MM, Virgili J, Estruch J, Fernández-Lopez JA, Remesar X, Alemany M. Effect of the slimming agent oleoyl-estrone in liposomes on the body weight of Zucker obese rats. *Int J Obes* 1997; 21: 789-795.(a)

Balada F, Sanchis D, Virgili J, Grasa MM, Monserrat C, Fernández-Lopez JA, Remesar X, Alemany M. Effect of the slimming agent oleoyl-estrone in liposomes on the body weight of rats fed a cafeteria diet. *Arch Physiol Biochem* 1997; 105: 487-495.(b)

Balada F, Sanchis D, Grasa MM, Virgili J, Estruch J, Fernández-Lopez JA, Remesar X, Alemany M. Differential short-term distribution of estrone and oleoyl-estrone administered in liposomes to lean and obese Zucker rats. *Obes Res* 1998; 6: 34-39.

Bandini LG, Schoeller DA, Cyr HN, Dietz WH. Validity of reported energy intake in obese and nonobese adolescents. *Am J Clin Nutr* 1990; 52: 421-425.

Banks RE, Forbes MA, Storr M, Higginson J, Thompson D, Raynes J, Illingworth JM, Perren TJ, Selby PJ, Whicher JT. The acute phase protein response in patients receiving subcutaneous IL-6. *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 217-223.

Barabant G, Horn R, Von Zur Muhlen A, Mayr B, Wurster U, Heidenreich F, Schnabel D, Gruters-Kieslich A, Zimmermann-Belsing T, Feldt-Rasmussen U. Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation. *Diabetologia* 2000; 43: 438-442.

Barbetti F, Gejman PV, Taylor SI, Raben N, Cama A, Bonora E, Pizzo P, Moghetti P, Muggeo M, Roth J. Detection of mutations in insulin receptor gene by denaturing gradient gel electrophoresis. *Diabetes* 1992; 41: 408-415.

Baskin DG, Wilcox BJ, Figlewicz DP, Dorsa DM. Insulin and insulin-like growth factors in the CNS. *Trends Neurosci* 1988; 11: 107-111.

Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, Vidal H, Hainque B. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3338-3342.

Baura GD, Foster DM, Porte D, Kahn SE, Bergman RN, Cobelli C, Schwartz MW. Saturable transport of insulin from plasma into the central nervous system of dogs in vivo. A mechanism for regulated insulin delivery to the brain. *J Clin Invest* 1993; 92: 1824-1830.

Beck B, Bulet A, Nicolas JP, Bulet C. Hypothalamic neuropeptide Y (NPY) in obese Zucker rats: implications in feeding and sexual behaviors. *Physiol Behav* 1990; 47: 449-453.

Bell EA, Castellanos VH, Pelkman CL, Thorwart ML, Rolls BJ. Energy density of foods affects energy intake in normal-weight women. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 412-420.

Bemelmans MHA, Van Tis LJH, Buurman WA. Tumor necrosis factor: function, release and clearance. *Crit Rev Immunol* 1996; 16:1-11.

Bennett PH. Epidemiology of diabetes mellitus. In: Rifkin H, Porte DR, eds. *Elleneberg and Rifkin's Diabetes Mellitus*. New York: Elsevier, 1990: 363-377.

Berchtold P, Jorgens V, Finke C, Berger M. Epidemiology of obesity and hypertension. *Int J Obes* 1981; 5 : 1-7.

Billington CJ, Briggs JE, Grace M, Levine AS. Effects of intracerebroventricular injection of neuropeptide Y on energy metabolism. *A J Physiol* 1991; 260: R321-R327.

Bing C, Wang W, Pickavance L, Williams G. The central regulation of energy homeostasis: roles of neuropeptide Y and other brain peptides. *Biochem Soc Transac* 1996; 24: 559-565.

Björntorp P, Karlsson M, Petoft H, Pettersson P, Sjostrom L, Smith U. Isolation and characterization of cells from rat adipose tissue developing into adipocytes. *J Lipid Res* 1978; 19: 316-324.

Björntorp P. Metabolic implications of body fat distribution. *Diabetes Care* 1991; 14: 1132-1143.

Björntorp P. Endocrine abnormalities of obesity. *Metabolism* 1995; 44: 21-23.

Bolinder J, Lindblad A, Engfeldt P, Arner P. Studies of acute effects of insulin-like growth factors I and II in human fat cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65: 732-737.

Bonadonna RC, Groop LC, Zych K, Shank M, DeFronzo RA. Dose-dependent effect of insulin on plasma free fatty acid turnover and oxidation in humans. *Am J Physiol* 1990; 259: E736-E750.

Borg W, Shackleton CH, Pahuja SL, Hochberg RB. Long-lived testosterone esters in the rat. *Proc Nat Acad Sci* 1995; 92: 1545-1549.

Boss O, Samec S, Paoloni-Giacobino A, Rossier C, Dulloo A, Seydoux J, Muzzin P, Giacobino JP. Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS* 1997; 408: 39-42.

Boss O, Samec S, Kuhne F, Bijlenga P, Assimacopoulos-Jeannet F, Seydoux J, Giacobino JP, Muzzin P. Uncoupling protein-3 expression in rodent skeletal muscle is modulated by food intake but not by changes in environmental temperature. *J Biol Chem* 1998; 273: 5-8.

Bouchard C, Pérusse L, Leblanc C, Tremblay A, Thériault G. Inheritance of the amount and distribution of human body fat. *Int J Obes* 1988; 12: 205-215.

Bouchard C. Current understanding of the etiology of obesity: genetic and nongenetic factors. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1561-1565.

Bouchard C, Tremblay A. Genetic influences on the response of body fat and fat distribution to positive and negative energy balances in human identical twins. *J Nutr* 1997; 127: 943S-947S. (a)

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 Gen* 1997; 6: 1887-1889. (b)

Bouillaud F, Villarroya F, Hentz E, Raimbault S, Cassard AM, Ricquier D. Detection of brown adipose tissue uncoupling protein mRNA in adult patients by a human genomic probe. *Clin Sci* 1988; 75: 21-27.

Brady LS, Smith MA, Gold PW, Herkenham M. Altered expression of hypothalamic neuropeptide mRNAs in food-restricted and food-deprived rats. *Neuroendocrinology* 1990; 52: 441-447.

Braguinsky J. Tejido adiposo. En: *Obesidad. Patogenia, clínica y tratamiento*. Ed. J Braguinsky. 1º ed. El Ateneo Pedro García S.A, Buenos Aires, 1996, pp: 70-90.

Bray GA, Fisler J, York DA. Neuroendocrine control of the development of obesity: understanding gained from studies of experimental animal models. *Front Neuroendocrinology* 1990; 11: 128-181.

Bray GA. Peptides affects the intake of specific nutrients of the sympathetic nervous system. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 265S-271S.

Bray GA. Health hazards of obesity. *Endocrinol Metab Clin N Am* 1996; 25: 907-919.

Bronstein DM, Schafer MK, Watson SJ, Akil H. Evidence that beta-endorphin is synthesized in cells in the nucleus tractus solitarius: detection of POMC mRNA. *Brain Res* 1992; 587: 269-275.

Bulló Bonet M, García-Lorda P, López-Soriano FJ, Argilés JM, Salas-Salvadó J. Tumor necrosis factor, a key role in obesity? *FEBS* 1999; 451: 215-219.

Burck HC, Citoler P. Técnica Histológica. Manual para realizar preparaciones microscópicas en el laboratorio. Editorial Paz Montalvo. 1969. España.

Burdi AR, Poissonet CM, Garn SM, et al. Adipose tissue growth patterns during human gestation: a histometric comparison of bucal and gluteal fat depots. *Int J Obes* 1985; 9: 247-256.

Burtis CA, Ashwood ER. Tiez textbook of Clinical Chemistry. 2ª Edition, 1994. WB Saunders Company. A Division of Harcourt Brace and Company. The Curtis Center. Independence Square. Philadelphia, Pennsylvania.

Burysek L, Tvrdik P, Houstek J. Expression of interleukin-1 alpha and interleukin-1 receptor type I genes in murine brown adipose tissue. *FEBS Letters* 1993; 334: 229-232.

Campos SP, Baumann H. Insulin is a prominent modulator of the cytokine-stimulated expression of acute-phase plasma protein genes. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 1789-1797.

Carbajal A, Varela-Moreiras G, Ruiz-Soso B, Perea I, Moreiras O. Nutrición y salud de las personas de edad avanzada en Europa: Euronut-SENECA. Estudio de España.3. Estado nutritivo: antropometría, hematología, lípidos y vitaminas. *Rev Esp Geriatri y Geront* 1993; 28: 230-242.

Carlson MG, Snead WL, Campbell PJ. Regulation of lipolysis during the neonatal period. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 11-15.

Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, Lynn RB, Zhang PL, Sinha MK, Considine RV. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* 1996; 348: 159-161.

Cassano PA, Rosner B, Vokonas PS, Weiss ST. Obesity and body fat distribution in relation to the incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus. A prospective cohort study of men in the normative aging study. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1474-1486.

Cermak J, Key NS, Bach RR, Balla J, Jacob HS, Vercellotti GM. C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood* 1993; 82: 513-520.

Chagnon YC, Pérusse L, Weisnagel SJ, Rankinen T, Bouchard C. The human obesity gene map: The 1999 update. *Obes Res* 2000; 8: 89-117.



Cahlis BG, Yeo GS, Farooqi IS, Luan J, Aminian S, Halsall DJ, Keogh JM, Wareham NJ, O'Rahilly S. The CART gene and human obesity: mutational analysis and population genetics. *Diabetes* 2000; 49: 872-875.

Chen NX, Hausman GJ, Wright JT. Influence of thyroxine in vivo on preadipocyte development and insulin-like growth factor-I and IGF binding protein secretion in fetal stromal vascular cell cultures. *Obes Res* 1996; 4: 357-366.

Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987; 162: 156-159.

Choy LN, Rosen BS, Spiegelman BM. Adipsin and an endogenous pathway of complement from adipose cells. *J Biol Chem* 1992; 267: 12736-12741.

Cianflone K, Maslowska M. Differentiation-induced production of ASP in human adipocytes. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 817-825.

Cianflone K. Acylation stimulating protein and the adipocyte. *J Endocrinol* 1997; 155: 203-206.

Clark JT, Kalra PS, Crowley WR, Kalra SP. Neuropeptide Y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behaviour in rats. *Endocrinology* 1984; 115: 427-429.

Clausen JO, Hansen T, Bjorbaek C, Echwald SM, Urhammer SA, Rasmussen S, Andersen CB, Hansen L, Almind K, Winther K, et al. Insulin resistance: interactions between obesity and a common variant of insulin receptor substrate-1. *Lancet* 1995; 346: 397-402.

Cleary MP, Zisk FJ. Antiobesity effects of two different levels of dehydroepiandrosterone in lean and obese middle-aged female Zucker rats. *Int J Obes* 1986; 14: 457-463.

Clement K, Lahlou N, Ruiz J, Hager J, Bougneres P, Basdevant A, Guy-Grand B, Froguel P. Association of poorly controlled diabetes with low serum leptin in morbid obesity. *Int J Obes* 1997; 21: 556-561.

Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Manson JE, Hennekens CH, Arky RA, Speizer FE. Weight as a risk factor for clinical diabetes in women. *Am J Epidemiol* 1990; 132: 501-513.

Colditz GA, Willett WC, Rotnitzky A, Manson JE. Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Int Med* 1995; 122: 481-486.

Coleman DM, Hummel KP. Effects of parabiosis of normal with genetically obese with genetically obese mice. *Am J Physiol* 1973; 217: 1298-1304.

Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334: 292-295.

Cook DG, Mendall MA, Whincup PH, Carey IM, Ballam L, Morris JE, Miller GJ, Strachan DP. C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis* 2000; 149: 139-150.

Corica F, Allegra A, Corsonello A, Buemi M, Calapai G, Ruello A, Nicita Mauro V, Ceruso C. Relationship between plasma leptin levels and the tumor necrosis factor- $\alpha$  system in obese subjects. *Int J Obes* 1999; 23: 355-360.

Cousin B, Munoz O, Andre M, Fontanilles AM, Dani C, Cousin JL, Laharrague P, Castella L, Penicaud L. A role for preadipocytes as macrophage-like cells. *FASEB J* 1999; 3: 305-312.

Cowherd RM, Lyle RE, McGehee RE. Molecular regulation of adipocyte differentiation. *Cell Develop Biol* 1999; 10: 3-10.

Cuatrecases G, Formiguera X, Foz M Bases genéticas de la obesidad. En: Foz M, Formiguera X, editores. *Obesidad*. Harcourt Brace SA, España. 1998; 85-93.

Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease. *JAMA* 1998; 279: 1477-1482.

Danforth E, Sims EA. Obesity and efforts to lose weight. *N Engl J Med* 1992; 327: 1947-1948.

De Fronzo RA, Gunnarsson R, Bjorkman O, Olsson M, Wahren J. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1985; 76: 149-155.

De Lecea L, Kilduff TS, Peyron C, Gao XB, Foye PE, Danielson PE, Fukuhara C, Battenberg ELF, Gautvik VT, Bartlett FS, Frankel WN, van den Pol AN, Bloom FE, Gautvik KM, Sutcliffe JG. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc Nat Acad Sci* 1998; 95: 322-327.

Deslypere JP, Verdonck L, Vermeulen A. Fat tissue: a steroid reservoir and site of steroid metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 564-70.

Deurenberg P, Hautvast JG. Prevalence of overweight and obesity in The Netherlands in relation to sociodemographic variables, lifestyle and eating behavior: starting points for the prevention and treatment of obesity. *Bibliotheca Nutritio et Dieta* 1989; 44: 8-21.

Douse GK, Zimmet P, Finch CF, Collins VR. Decline in incidence of epidemic glucose intolerance in Nauruans: implications for the 'thrifty genotypy'. *Am J Epidemiol* 1991; 133: 1093-1104.

Dreon DM, Frey-Hewitt B, Ellsworth N, Williams PT, Terry RB, Wood PD. Dietary fat: carbohydrate ratio and obesity in middle-aged men. *Am J Clin Nutr* 1988; 47: 995-1000.

Dusserre E, Moulin P, Vidal H. Differences in mRNA expression of the proteins secreted by the adipocytes in human subcutaneous and visceral adipose tissues. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1500: 88-96.

Echwald SM, Sorensen TI, Andersen T, Hansen C, Tommerup N, Pedersen O. Sequence variants in the human cocaine and amphetamine-regulated transcript (CART) gene in subjects with early onset obesity. *Obes res* 1999; 7: 532-536.

Edholm OG. Energy balance in man. *J Human Nutr* 1977; 31: 413-431.

Eichholzer M, Luthy J, Gutzwiller F. Epidemiology of voerweicht in Switzerland: results of the National Health Survey 1992-93. *Schweiz Med Wochenschr* 1999; 129: 353-361.

Emilsson V, Liu YL, Cawthorne MA, Morton NM, Davenport M: Expression of the functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action on insulin secretion. *Diabetes* 1997; 411: 351-355.

Engfeld P, Hellmér J, Wahrenberg H, Arner P. Effects of insulin on adrenoceptor binding and the arte of catecholamine-induced lipolysis in isolated human fat cells. *J Biol Chem* 1988; 263: 15553-15560.

Enocksson S, Schimizu M, Lönnqvist F, Nordenström J, Arner P. Demonstration of an in vivo functional  $\beta_3$ -adrenoceptor in man. *J Clin Invest* 1995; 95: 2239-2245.

Esteve E, Virgili J, Aguilar H, Balada F, Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. Leptin enhances the synthesis of oleoyl-estrone from estrone in white adipose tissue. *Eur J Nutr* 1999; 38: 99-104.

Falatt JP. Dietary fat, carbohydrate balance and weight maintenance: effect of exercise. *Am J Clin Nutr*. 1987; 45: 296-306.

Fawcett RL, Waetcher AS, Williams LL B, Hang P, Louie R, Jones R, Inman M, Huse J, Considine RV. Tumor necrosis factor- $\alpha$  inhibits leptin production in subcutaneous and omental adipocytes from morbidly obese humans. *J Clin Endocrin Metab* 2000; 85: 530-535.

Feingold KR, Doerrler W, Dinarello CA, Fiers W, Grunfeld C. Stimulation of lipolysis in cultured fat cells by tumor necrosis factor, interleukin-1, and the interferons is blocked by inhibition of prostaglandin synthesis. *Endocrinology* 1992; 130: 10-16.

Ferlito S, Palermo A, Mazzone D, Condorelli M, Papalia D. Fibrinogen and antithrombin III in obese subjects. *Min Endocrinol* 1990; 15: 145-148.

Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. Short-term treatment with oleoyl-oestrone in liposomes (Merlin-2) strongly reduces the expression of the ob gene in young rats. *Biochem J* 1997; 326: 357-360.

Fernández-Real JM, Broch M, Ricart W, Casamitjana R, Gutiérrez C, Vendrell J, Richart C. Plasma levels of the soluble fraction of tumor necrosis factor receptor 2 and insulin resistance. *Diabetes* 1998; 47: 1757-1762.

Fernández-Real JM, Sanchis D, Ricart W, Casamitjana R, Balada F, Remesar X, Alemany M. Plasma oestrone-fatty acid ester levels are correlated with body fat mass in humans. *Clin Endocrinol* 1999; 50: 253-260.

Ferrannini E, Barret EJ, Bevilacqua S, DeFronzo RA. Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man. *J Clin Invest* 1983; 72: 1737-1744.

Ferraro R, Boyce VL, Swinburn B, De Gregorio M, Ravussin E. Energy cost of physical activity on a metabolic ward in relationship to obesity. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1368-1371.

Figlewicz DP, Stein LJ, West D, Porte DJ, Woods SC. Intracisternal insulin alters sensitivity to CCK-induced meal suppression in baboons. *Am J Physiol* 1986; 250: R856-R860.

Fleury C, Neverova M, Collins S, Raimbault S, Champigny O, Levi-Meyrueis C, Bouillaud F, Seldin MF, Surwit RS, Ricquier D, Warden CH. Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat Gen* 1997; 15: 269-272.

Fraze E, Donner CC, Swislocki AL, Chiou YA, Chen YD, Reaven GM. Ambient plasma free fatty acid concentrations in noninsulin-dependent diabetes mellitus: evidence for insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 807-811.

Fried SK, Zechner R. Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis, and activity. *J Lip Res* 1989; 30: 1917-1923.

Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 847-850.

Fried SK, Zechner R. Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis, and activity. *J Lip Res* 1989; 30: 1917-1923.

Froidevaux F, Schutz Y, Christin L, Jequier E. Energy expenditure in obese women before and during weight loss, after refeeding, and in the weight-relapse period. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 35-42.

Frost PG, Reed MJ, James WPT. The aromatization of androstendione by human adipose and liver tissue. *J Steroid Bioche* 1980; 13: 1427-1431.

Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340: 448-454.

Gainsford T, Willson TA, Metcalf D, Handman E, McFarlane C, Ng A, Nicola NA, Alexander WS, Hilton DJ. Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hemopoietic cells. *Proc Nat Acad Sci* 1996; 93: 14564-14568.

Galuska DA, Serdula M, Pamuk E, Siegel PZ, Byers T. Trends in overweight among US adults from 1987 to 1993: a multistate telephone survey. *Am J Pub Health* 1996; 86: 1729-1735.

Garfinkel L. Overweight and mortality. *Cancer* 1986; 58: 1826-1829.

Gerich JE. Insulin resistance is not necessarily an essential component of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 86: 2113-2115.

Gibbs J, Young RC, Smith GP. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J Comp Physiol Psychol* 1973; 84: 488-495.

Giger K, Riedwyl H. Bestimmung der Grossenverteilung von Kugeln aus Schnittkreisradien. *Biometrische Zeitschrift* 1970; 12: 156.

Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Physical activity, obesity, and risk for colon cancer and adenoma in men. *Ann Intern Med* 1995; 122: 327-334.

Gore LF. The measurement of the microscope image. *Med Lab Sci* 1979; 36: 63.

Gottschling-Zeller H, Birgel M, Scriba D, Blum WF, Hauner H. Depot-specific release of leptin from subcutaneous and omental adipocytes in suspension culture: effect of tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta 1. *Eur J Endocrinol* 1999; 141: 436-442.

Graham M, Shutter JR, Sarmiento U, Sarosi I, Stark KL. Overexpression of Agrt leads to obesity in transgenic mice. *Nat Gen* 1997; 17: 273-274.

Granowitz EV. Transforming growth factor-beta enhances and pro-inflammatory cytokines inhibit ob gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Comm* 1997; 240: 382-385.

Gray JM, Nunez AA, Siegel LI, Wade GN. Effects of testosterone on body weight and adipose tissue: role of aromatisation. *Physiol Behav* 1979; 23: 465-469.

Greenberg AS, Nordan RP, McIntosh J, Calvo JC, Scow RO, Jablons D. Interleukin 6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T3-L1 adipocytes: a possible role for interleukin 6 in cancer cachexia. *Cancer Res* 1992; 52: 4113-4116.

Gregoire FM, Smas CM, Hei Sook Sul. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev* 1998; 3: 783-809.

Griffiths M, Payne PR, Stunkard AJ, Rivers JP, Cox M. Metabolic rate and physical development in children at risk of obesity. *Lancet* 1990; 336: 76-78.

Groop LC, Bonadonna RC, DelPrato S, Ratheiser K, Zyck K, Ferrannini E, DeFronzo RA. Glucose and free fatty acid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Evidence for multiple sites of insulin resistance. *J Clin Invest* 1989; 84: 205-213.

Groop LC, Kankuri M, Schalin-Jantti C, Ekstrand A, Nikula-Ijas P, Widen E, Kuismanen E, Eriksson J, Franssila-Kallunki A, Saloranta C. Association between polymorphism of the glycogen synthase gene and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 328: 10-14.

Grunfeld C, Gulli R, Moser AH, Lawrence AG, Feingold KR. Effect of tumor necrosis factor administration in vivo lipoprotein lipase activity in various tissue of the rat. *J Lip Res* 1989; 30: 579-585.

Guler H-P, Zapf J, Froesch ER. Short-term metabolic effects of recombinant human insulin-like growth factor I in healthy adults. *N Engl J Med* 1987; 317: 137-140.

Gutiérrez-Fisac JL, Regidor E, Rodríguez C. Prevalencia de la obesidad en España. *Med Clín (Barc)* 1994; 102: 10-13.

Gutiérrez-Fisac JL, Rodríguez Artalejo F, Guallar-Castillon P, Banegas Banegas JR, del Rey Calero J. Determinants of geographical variations in body mass index (BMI) and obesity in Spain. *Int J Obes* 1999; 23: 342-347.

Gutmann I, Wahlefeld AW. L-(+)-LACTATE. In Berfmeyer HU (ed). *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York. Pp1464-1468.

Hagan MM, Rushing PA, Pritchard LM, Schwartz MW, Strack AM, Van Der Ploeg LH, Woods SC, Seeley RJ. Long-term orexigenic effects of AgRP-(83---132) involve mechanisms other than melanocortin receptor blockade. *Am J Physiol Regulat Integr Comp Physiol* 2000; 279: R47-R52.

Hak AE, Stehouwer DA, Bots ML, Polderman KH, Schalkwijk CG, Westendorp ICD, Hofman A, Witterman JCM. Associations of C-reactive protein with measures of obesity, insulin resistance, and subclinical atherosclerosis in healthy, middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1986-1991.

Hales CN, Barker DJ, Clark PM, Cox LJ, Fall C, Osmond C, Winter PD. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ* 1991; 303: 1019-1022.

Hansen L, Hansen T, Vestergaard H, Bjorbaek C, Echwald SM, Clausen JO, Chen YH, Chen MX, Cohen PT, Pedersen O. A widespread amino acid polymorphism at codon 905 of the glycogen-associated regulatory subunit of protein phosphatase-1 is associated with insulin resistance and hypersecretion of insulin. *Hum Mol Gen* 1995; 4: 1313-1320.

Harris JA, Benedict FG. A biometric study of basal metabolism in man. Washington DC, The Carnegie Institute 1919.

Hauner H, Bender M, Haarstert B, Hube F. Plasma concentrations of soluble TNF-alpha receptors in obese subjects. *Int J Obes* 1998; 22: 1239-1243.

Heitmann BL. Occurrence and development of overweight and obesity among the Danes aged 30-60 years. *Ugeskr Laeger* 1999; 161: 4380-4384.

Heny D, Wicher JT. Factors affecting the measurement of cytokines in biological fluids: implications for their clinical measurement. *Ann Clin Biochem* 1995; 32: 358-368.

Hill JO, Peters J. Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science* 1998; 280: 1371-1373.

Hinney A, Schmidt A, Nottebom K, Heibult O, Becker I, Ziegler A, Gerber G, Sina M, Gorg T, Mayer H, Siegfried W, Fichter M, Remschmidt H, Hebebrand J. Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:1483-1486.

Hirokawa J, Sakaue S, Tagami S, Kawakami Y, Sakai M, Nishi S, Nishihira J. Identification of macrophage migration inhibitory factor in adipose tissue and its induction by tumor necrosis factor-alpha. *Biochem Biophys Res Comm* 1997; 235: 94-98.

Hoag S, Marshall JA, Jones RH, Hamman RF. High fasting insulin levels associated with lower rates of weight gain in persons with normal glucose tolerance: the San Luis Valley Diabetes Study. *Int J Obes* 1995; 19: 175-180.

Hodge AM, Dowse GK, Toelupe P, Collins VR, Imo T, Zimmet PZ. Dramatic increase in the prevalence of obesity in western Samoa over the 13 year period 1978-1991. *Int J Obes* 1994; 18: 419-428.

Hogevold HE, Lyberg T, Kahler H, Haug E, Reikeras O. Changes in plasma IL-1 beta, TNF-alpha and IL-6 after total hip replacemet surgery in general or regional anaesthesia. *Cytokine* 2000; 12: 1156-1159.

Hollenbeck CB, Reaven GM. Variations in insulin-stimulated glucose uptake in healthy individuals with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 1169-1173.

Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91: 4854-4858.

Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNFalpha and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996; 271: 665-668.

Hotamisligil GS, Arner P, Atkinson PL, Spiegelman BM. Differential regulation of the p80 tumor necrosis factor receptor in human obesity and insulin resistance. *Diabetes* 1997; 46: 451-455.

Hotamisligil GS. Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance. *Exp Clin Endocrinol Diab* 1999; 107: 119-125.

Howard BV, Savage PJ, Nagulesparan M, Bennion LJ, Unger RH, Bennett PH. Evidence for marked sensitivity to the antilipolytic action of insulin in obese maturity-onset diabetics. *Metab Clin Exp* 1979; 28: 744-750.

Hrdlicka A. Physiological and Medical Observations among the indians of Southwestern United States and Northern Mexico. Washington DC: Smithsonian Institute, Bureau of American Ethnology 1907; Bulletin 24.

Hube F, Birgel M, Lee YM, Hauner H. Expression pattern of tumor necrosis factor receptors in subcutaneous and omental human adipose tissue: role of obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 1999; 29: 672-678.

Hyman BT, Stoll LL, Spector AA. Prostaglandin production by 3T3-L1 cells in culture. *Biochim Biophys Acta* 1982; 713: 375-385.

Illiano G, Cuatrecasas P. Modulation of adenylate cyclase activity in liver and fat cell membranes by insulin. *Science* 1971; 175: 906-908.

Isse N, Ogawa Y, Tamura N, Masuzaki H, Mori K, Okazaki T, Satoh N, Shigemoto M, Yoshimasa Y, Nishi S, Hosada K, Inazawa J, Nakao, K. Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. *J Biol Chem* 1995; 270: 27728-27733.



Jacobson A, Stadler U, Glotzer MA, Kozak LP. Mitochondrial uncoupling protein from mouse brown fat: molecular cloning, genetic mapping and mRNA expression. *J Biol Chem* 1985; 260: 16250-16254.

James DE, Piper RC. Insulin resistance, diabetes, and the insulin-regulated trafficking of GLUT-4. *J Cell Biol* 1994; 126: 1123-1126.

Jensen MD, Hamond MW, Rizza RA, Cryer PE, Miles JM. Influence of body fat distribution on free fatty acid metabolism in obesity. *J Clin Invest* 1989; 83: 1168-1173.

Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 1998; 391: 82-86.

Juhan-Vague I, Alessi MC. PAI-1, obesity, insulin resistance and risk of cardiovascular events. *Thromb Haemos* 1997; 78: 656-660.

Kaiyala KJ, Woods SC, Schwartz MW. New model for the regulation of energy balance and adiposity by the central nervous system. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1123S-1134S.

Kannel WB, Brand N, Skinner JJ, Dawber TR, McNamara PM. The relation of adiposity to blood pressure and development of hypertension. The Framingham study. *Ann Int Med* 1967; 67: 48-59.

Karvonen MK, Pesonen U, Koulu M, Niskanen L, Laakso M, Rissanen A, Dekker JM, Hart LM, Valve R, Uusitupa MI. Association of a leucine(7)-to-proline(7) polymorphism in the signal peptide of neuropeptide Y with high serum cholesterol and LDL cholesterol levels. *Nat Med* 1998; 4: 1434-1437.

Kather H, Wieland E, Scheurer A, Vogel G, Wildenberg U, Joost C. Influences of variation in total energy intake and dietary composition on regulation of fat cell lipolysis in ideal-weight subjects. *J Clin Invest* 1987; 80: 566-572.

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.

Kern PA, Svoboda ME, Eckel RH, Van Wyk JJ. Inulin-like growth factor action and production in adipocytes and endothelial cells from human adipose tissue. *Diabetes* 1989; 38: 710-717.

Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 1995; 95: 2111-2119.

Khan BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000; 106: 473-481.

- Kieffer TJ, Heller RS, Leech CA, Holz GG, Habener JF. Leptin suppression of insulin secretion by the activation of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in pancreatic beta-cells. *Diabetes* 1997; 46: 1087-1093.
- Kim KH, Tae HJ. Pattern and regulation of acetyl-CoA carboxylase gene expression. *J Nutr* 1994; 124: 1273S-1283S.
- Kim YB, Nikoulina SE, Ciaraldi TP, Henry RR, Kahn BB. Normal insulin-dependent activation of Akt/protein kinase B, with diminished activation of phosphoinositide 3-kinase, in muscle in type 2 diabetes. *J Clin Invest* 1999; 104: 733-741.
- Kirchgessner TG, Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Tumor necrosis factor-alpha contributes to obesity-related hyperleptinemia by regulating leptin release from adipocytes. *J Clin Invest* 1997; 100: 2777-2782.
- Kissebah AH, Krakower GR. Regional adiposity and morbidity. *Physiol Rev* 1994; 74: 761-809.
- Kjeldhal J. Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Z Anal Chem* 1883; 22: 366-382.
- Kluthe R, Schubert A. Obesity in Europe. *Ann Intern Med* 1985; 103: 1037-1042.
- Kohrt W, Landt M, Birge Jr S. Serum leptin levels are reduced in response to exercise training, but not to hormone replacement therapy, in older women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3980-3985.
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660.
- Kolaczynski JW, Considine RV, Ohannesian C, Boden G, Nolan JJ, Henry R, Mudaliar SR, Olefsky J, Caro JF. Acute and chronic effect of insulin on leptin production in humans. *Diabetes* 1996; 45: 699-701.
- Kown HY, Bultman SJ, Loffler C, Chen WJ, Furdon PJ, Powell JG, Usala AL, Wilkinson W, Hansmann I, Woychik RP. Molecular structure and chromosomal mapping of the human homolog of the agouti gene. *Proc Nat Acad Sci* 1994; 91: 9760-9764.
- Krawisz BR, Florine DL, Scott RE. Differentiation of fibroblast-like cells into macrophages. *Cancer Res* 1981; 41: 2891-2899.
- Kristensen P, Judge ME, Thim L, Ribel U, Christjansen KN, Wulff BS, Clausen JT, Jensen PB, Madsen OD, Vrang N, Larsen PJ, Hastrup S. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature* 1998; 393: 72-76.

Krotkiewski M, Lonroth P, Mandroukas K, Wroblewski Z, Rebuffe-Scrive M, Holm G, Smith U, Bjorntorp P. The effects of physical training on insulin secretion and effectiveness and on glucose metabolism in obesity and type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1985; 28: 881-890.

Kuczmarski RJ, Flegal KM, Campbell SM, Johnson CL. Increasing prevalence of overweight among US adults. The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1960 to 1991. *JAMA* 1994; 272: 205-211.

Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Epidemiol* 1996; 144: 537-547.

Kumar A, Mittal S, Buckshee K, Farooq A. Reproductive functions in obese women. *Prog Food Nutr Sci* 1993; 17: 89-98.

Lapidus L, Bengtsson C, Larsson B, Pennert K, Rybo E, Sjostrom L: Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: a 12 year follow up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. *BMJ* 1984; 289: 1257-1261.

Large V, Reynisdottir S, Eleborg L, van Harmelen V, Strommer L, Arner P. Lipolysis in human fat cells obtained under local and general anesthesia. *Int J Obes* 1997; 21: 78-82.

Larsen PJ, Jessop DS, Chowdrey HS, Lightman SL, Mikkelsen JD. Chronic administration of glucocorticoids directly upregulates prepro-neuropeptide Y and Y1-receptor mRNA levels in the arcuate nucleus of the rat. *J Neuroendocrinol* 1994; 6: 153-159.

Larson DE, Ferraro RT, Robertson DS, Ravussin E. Energy metabolism in weight-stable postobese individuals. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 735-739.

Larsson H, Elmstahl S, Ahren B. Plasma leptin levels correlate to islet function independently of body fat in postmenopausal women. *Diabetes* 1996; 45: 1580-1584.

Lean ME, Han TS, Seidell JC. Impairment of health and quality of life in people with large waist circumference. *Lancet* 1998; 351: 853-856.

Leszczynski DE, Schafer RM, Perkins EG, Jerrell JP, Kummerow FA. Esterification of dehydroepiandrosterone by human plasma HDL. *Biochem Biophys Acta* 1989; 1014: 90-97.

Lillioja S, Mott DM, Zawadzki JK, Young AA, Abbott WG, Knowler WC, Bennett PH, Moll P, Bogardus C. In vivo insulin action is a familial characteristic in nondiabetic Pima Indians. *Diabetes* 1987; 36: 1329-1335.

Lillioja S, Mott DM, Spraul M, Ferraro R, Foley JE, Ravussin E, Knowler WC, Bennett PH, Bogardus C. Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as precursors of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Prospective studies of Pima Indians. *N Engl J Med* 1993; 329: 1988-1992.

Lisch HJ, Sailer S, Dittrich P, Braunsteiner H. Effect of general and local anaesthesia on basal and noradrenaline-stimulated lipolysis in isolated human subcutaneous fat cells. *Res Exp Med* 1974; 163: 335-339.

Lissner L, Heitmann BL. Dietary fat and obesity: evidence from epidemiology. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49: 79-90.

Londos C, Gruia-Gray J, Brasaemle DL, Rondinone CM, Takeda T, Dwyer NK, Barber T, Kimmel AR, Blanchette-Mackre EJ. Perilipins: possible roles in structure and metabolism of intracellular neutral lipids in adipocytes and steroidogenic cells. *Int J Obes* 1996; 20: S97-S101.

Lönnqvist F, Thorne A, Nilzell K, Hoffstedt J, Arner P. A pathogenic role of visceral  $\beta$ 3 adrenoceptors in obesity. *J Clin Invest* 1995; 95: 1109-1116. (a).

Lönnqvist F, Arner P, Norfords L, Schalling M. Overexpression of the obese (ob) gene in human obese subjects. *Nature* 1995; 1: 950-953. (b).

Lönnqvist F, Wennlund A, Arner P. Relationship between circulating leptin and peripheral fat distribution in obese subjects. *Int J Obes* 1997; 21: 255-260.

Maffei M, Haalas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Raganathan S. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and obRNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995; 1: 1155-1161.

Maillard G, Charles MA, Thibault N, Forhan A, Sermet C, Basdevant A, Eschwege E. Trends in the prevalence of obesity in the French adult population between 1980 and 1991. *Int J Obes* 1999; 23: 389-394.

Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Rosner B, Monson RR, Speizer FE, Hennekens CH. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1990; 322: 882-889.

Marcus C, Ehrén H, Bolme P, Arner P. Regulation of lipolysis during the neonatal period. *J Clin Invest* 1988; 82: 1793-1797.

Márquez-Contreras E, Cordero Méndez F, López Tierra G. Prevalencia de la obesidad en población general adulta. Carta al director. *Aten Primaria* 1993; 12: 622-623.

Martinez ME, Giovannucci E, Spiegelman D. Physical activity, body size, and colorectal cancer in women. *Am J Epidemiol* 1996; 146: S73.

Maruo N, Morita I, Shirao M, Murota S. IL-6 increases endothelial permeability in vitro. *Endocrinology* 1992; 131: 710-714.

Matson C, Ritter R. Long term CCK-leptin synergy suggest a role for CCK in the regulation of body weight. *Am J Physiol* 1999; 276: R1038-R1045.

Medina EA, Stanhope KL, Mizuno TM, Mobbs CV, Gregoire F, Hubbard NE, Erickson KL, Havel PJ. Effects of tumor necrosis factor alpha on leptin secretion and gene expression: relationship to changes of glucose metabolism in isolated rat adipocytes. *Int J Obes* 1999; 23: 896-903.

Mercer JG, Moar KM, Hoggard N. Localization of leptin receptor (Ob-R) messenger ribonucleic acid in the rodent hindbrain. *Endocrinology* 1998; 139: 29-34.

Mertz W, Tsui JC, Judd JT, Reiser S, Hallfrisch J, Morris ER, Steele PD, Lashley E. What are people really eating? The relation between energy intake derived from estimated diet records and intake determined to maintain body weight. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 291-295.

Messerli FH, Nunez BD, Ventura HO, Snyder DW. Overweight and sudden death. Increased ventricular ectopy in cardiopathy of obesity. *Arch Int Med* 1987; 147: 1725-1728.

Millman RP, Carlisle CC, Mc Garvey ST, Eveloff SE, Levinson PD. Body fat distribution and sleep apnea severity in women. *Chest* 1995; 107: 362-366.

Minth CD, Bloom SR, Polak JM, Dixon JE. Cloning, characterization, and DNA sequence of a human cDNA encoding neuropeptide tyrosine. *Proc Nat Acad Sci* 1984; 81: 4577-4581.

Mizuno A, Murakami T, Otani S, Kuwajima M, Shima K. Leptin affects pancreatic endocrine functions through the sympathetic nervous system. *Endocrinology* 1998, 139: 3863-3870.

Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppack SW. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4196-4200.

Mohamed-Ali V, Pinkney JH, Coppack SW. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int J Obes* 1998; 22: 1145-1158.

Mokdad AH, Serdula MK, Dietz WH, Bowman BA, Marks JS, Koplan JP. The spread of the obesity epidemic in the United States, 1991-1998. *JAMA* 1999; 282: 1519-1522.

Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB, O'Rahilly S. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387: 903-908.

Mountjoy KG, Mortrud MT, Low MJ, Simerly RB, Cone RD. Localization of the melanocortin-4 receptor (MC4-R) in neuroendocrine and autonomic control circuits in the brain. *Mol Endocrinol* 1994; 8: 1298-1308.

Myers MG, White MF. The new elements of insulin signaling. Insulin receptors substrate-1 and proteins with SH2 domains. *Diabetes* 1993; 42: 643-650.

Nakajima-Ijima S, Hamada H, Reddy P, Kakunaga T. Molecular structure of the human cytoplasmic beta-actin gene: interspecies homology of sequences in the introns. *Proc Nat Acad Sci* 1985; 82: 6133-6137.

Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001; 409: 194-198.

Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, Smith D, Jarrett-Nedwin J, Pennica D, Goeddel DV, Gray PW. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucl Acid Res* 1985; 13: 6361-6373.

Neel JV. Diabetes mellitus: a thrifty genotype rendered detrimental by 'progress'? *Am J Hum Gen* 1962; 14: 353-362.

Nylhom B, Fisker S, Lund S, Moller N, Schmitz O. Increased circulating leptin concentrations in insulin-resistant first-degree relatives of patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: relationship to body composition and insulin sensitivity but not to family history of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 1997; 136: 173-179.

Odawara M., Kadowaki T, Yamamoto R, Shibasaki Y, Tobe K, Accili D, Bevins C, Mikami Y, Matsuura N, Akanuma Y, Takaku F, Taylor SI, Kasuga M. Human diabetes associated with a mutation in the tyrosine kinase domain of the insulin receptor. *Science* 1989; 245: 66-68.

Ofei F, Hurel S, Newkirk J, Sopwith M, Taylor R. Effects of an engineered human anti-TNF antibody (CDPS71) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes* 1996; 45: 881-885.

Ogawa H, Nielsen S, Kawakami M. Cachectin/tumor necrosis factor and interleukin-1 show different modes of combined effect on lipoprotein lipase activity and intracellular lipolysis in 3T3-L1 cells. *Biochim Biophys Acta* 1989; 1003: 131-135.

Ohki-Hamazaki H, Watase K, Yamamoto K, Ogura H, Yamano M, Yamada K, Maeno H, Imaki J, Kikuyama S, Wada E, Wada K. Mice lacking bombesin receptor subtype-3 develop metabolic defects and obesity. *Nature* 1997; 390: 165-169.

Ollmann MM, Wilson BD, Yang YK, Kerns JA, Chen Y, Gantz I, Barsh GS. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science* 1997; 278: 135-138.

O'Riordain MG, Ross JA, Fearon KC, Maingay J, Farouk M, Garden OJ, Carter DC. Insulin and counterregulatory hormones influence acute-phase protein production in human hepatocytes. *Am J Physiol* 1995; 269: E323-E330.

Ottosson M, Vikman-Adolfsson K, Enerback S, Elander A, Bjorntorp P, Eden S. Growth hormone inhibits lipoprotein lipase activity in human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 936-941.

Pagano R, La Vecchia C. Overweight and obesity in Italy, 1990-91. *Int J Obes* 1994; 18: 665-669.

Pahuja SL, Hochberg RB. A comparison of the fatty acid esters of estradiol and corticosterone synthesized by tissues of the rat. *J Biol Chem* 1989; 264: 3216-3222.

Peino R, Baldelli R, Rodriguez-Garcia J, Rodriguez-Segade S, Kojima M, Kangawa K, Arvat E, Ghigo E, Dieguez C, Casanueva FF. Ghrelin-induced growth hormone secretion in humans. *ur J Endocrinol* 2000; 143: R11-R14.

Peiris AN, Mueller RA, Smith GA, Struve MF, Kissebah AH. Splanchnic insulin metabolism in obesity: Influence of body fat distribution. *J clin Invest* 1986; 78: 1648-1657.

Peraldi P, Spiegelman B. TNF-alpha and insulin resistance: summary and future prospects. *Mol Cel Biochem* 1998; 182: 169-175.

Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia* 1997; 40: 1286-1292.

Pittet P, Chappuis P, Acheson K, De Techtermann F, Jequier E. Thermic effect of glucose in obese subjects studied by direct and indirect calorimetry. *Brit J Nutr* 1976; 35: 281-292.

Poissonet CM, Lavelle M, Burdi AR. Growth and development of adipose tissue. *J Pediatr* 1988; 113: 1-9.

Polonsky KS, Given BD, Van Cauter E. Twenty-four-hour profiles and pulsatile patterns of insulin secretion in normal and obese subjects. *J Clin Invest* 1988; 81: 442-448.

Quiles-Izquierdo J, Vioque J. Prevalencia de la obesidad en la Comunidad Valenciana. *Med Clin (Barc)* 1996; 106: 529-533.

Ramírez I, Kryski AJ, Ben-Ze'Ve O, Schotz MC, Serveson DL. Characterization of triacylglycerol hydrolase activities in isolated myocardial cells from rat heart. *Biochemical J* 1985; 232: 229-236.

Rand CS, Macgregor AM: Morbidly obese patients' perceptions of social discrimination before and after surgery for obesity. *South Med J* 1990; 83: 1390-1395.

Ravussin E, Lillioja S, Anderson TE, Christin L, Bogardus C. Determinants of 24-hour energy expenditure in man: methods and results using a respiratory chamber. *J Clin Invest* 1986; 78: 1568-1578.

Ravussin E, Lillioja S, Knowler WC, Christin L, Freymond D, Abbott WG, Boyce V, Howard BV, Bogardus C. Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body-weight gain. *N Engl J Med* 1988; 318: 467-472.

Ravussin E, Pratley RE, Maffei M, Wang H, Friedman JM, Bennett PH, Bogardus C. Relatively low plasma leptin concentrations precede weight gain in Pima Indians. *Nat Med* 1997; 3: 238-240.

Rebuffé-Scrive M, Anderson B, Olbe L, Björntorp P. Metabolism of adipose tissue in intraabdominal fat depots of non-obese men and women. *Metabolism* 1989; 38: 453-458.

Rebuffé-Scrive M, Anderson B, Olbe L, Björntorp P. Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots in severely obese men and women. *Metabolism* 1990; 39: 1021-1025.

Remesar X, Tang V, Ferrer E, Torregrosa C, Virgili J, Masanés RM, Fernández-López JA, Alemany M. Estrone in food: a factor influencing the development of obesity?. *Eur J Nutr* 1999; 38: 247-253.

Remesar X, Rafecas I, Fernández-López JA, Alemany M. Is leptin an insulin counter-regulatory hormone. *FEBS* 1997; 402: 9-11.

Reverter JC, Feliu E, Climent C, Rozman M, Berga L, Rozman C. Stereological study of human bone marrow adipocytes. A comparison of four methods for estimating size distributions. *Path Res Pract* 1993; 189: 1215-1220.

Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 1998; 391: 79-82.

Richter WO, Schwandt P. Colecystokinin 1-21 stimulates lipolysis in human adipose tissue. *Horm Metab Res* 1989; 21: 216-217.



Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women *Circulation* 1998; 98: 731-733.

Rimm EB, Stampfer MJ, Giovannucci E, Ascherio A, Spiegelman D, Colditz GA, Willett WC. Body size and fat distribution as predictors of coronary heart disease among middle-aged and older US men. *Am J Epidemiol* 1995; 141: 1117-1127.

Ritter S, Dinh T, Friedman M. Induction of Fos-like immunoreactivity (Fos-li) and stimulation of feeding by 2,5-anhydro-D-mannitol (2,5-AM) require the vagus nerve. *Brain Res* 1994; 646: 53-64.

Roberts SB, Savage J, Coward WA, Chew B, Lucas A. Energy expenditure and intake in infants born to lean and overweight mothers. *N Engl J Med* 1988; 318: 461-466.

Robinson BG, Emanuel RL, Frim DM, Majzoub JA. Glucocorticoid stimulates expression of corticotropin-releasing hormone gene in human placenta. *Proc Nat Acad Sci* 1988; 85: 5244-5248.

Rosell R, Belfrage E. Blood circulation in adipose tissue. *Physiol Rev* 1979; 59: 1078-1104.

Rotwell NJ. Central effects of CRF on metabolism and energy balance. *Neurosc Biobehav Rev* 1989; 14: 263-271.

Roy R, Belanger A. Presence of fatty acid esters of pregnenolone in follicular fluid from women undergoing follicle stimulation. *Steroids* 1989; 54: 385-400.

Sadur CN, Eckel RH. Insulin stimulation of adipose tissue lipoprotein lipase. Use of the euglycemic clamp technique. *J Clin Invest* 1982; 69: 1119-1125.

Sahu K, Kalra PS, Kalra SP. Food deprivation and ingestion induce reciprocal changes in neuropeptide Y concentrations in the paraventricular nucleus. *Peptides* 1988; 9: 83-86.

Sakaue S, Nishihira J, Hirokawa J, Yoshimura H, Honda T, Aoki K, Tagami S, Kawakami Y. Regulation of macrophage migration inhibitory factor (MIF) expression by glucose and insulin in adipocytes in vitro. *Mol Med* 1999; 5: 361-371.

Sako Y, Grill VE. A 48-hour lipid infusion in the rat time-dependently inhibits glucose-induced insulin secretion and B cell oxidation through a process likely coupled to fatty acid oxidation. *Endocrinology* 1990; 127: 1580-1589.

Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic

- neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998; 92: 573-585.
- Saladin R, Devos P, Guerro-Millo M, et al: Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 1995; 377: 527-529.
- Salas-Salvadó J, Barenys-Manent M, Recasens Gracia MA, Martí-Henneberg C. *Int J Obes* 1993; 17: 717-722.
- Sanacora G, Kershaw M, Finkelstein JA, White JD. Increased hypothalamic content of preproneuropeptide Y messenger ribonucleic acid in genetically obese Zucker rats and its regulation by food deprivation. *Endocrinology* 1990; 127: 730-737.
- Sanchis D, Balada F, del Mar Grasa M, Virgili J, Peinado J, Monserrat C, Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. Oleoyl-estrone induces the loss of body fat in rats. *Int J Obes* 1996; 20: 588-594.
- Sanchis D, Balada F, Pico C, Grasa MM, Virgili J, Farrerons C, Palou A, Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. Rats receiving the slimming agent oleoyl-estrone in liposomes (Merlin-2) decrease food intake but maintain thermogenesis. *Arch Physiol Biochem* 1997; 105: 663-672.(a)
- Sanchis D, Adan C, Ardévol A, Del Mar Grasa M, Cabot C, Balada F, Vila R, Estruch J, Puerta M, Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. Short-term treatment with oleoyl-oestrone in liposomes (Merlin-2) strongly reduces the expression of the ob gene in young rats. *Biochem J* 1997; 326 ( Pt 2): 357-360.(b)
- Scheurink AJ, Steffens AB. Central and peripheral control of sympathoadrenal activity and energy metabolism in rats. *Physiol Behav* 1990; 48: 909-920.
- Schottenfeld D, Fraumeni JF: *Cancer Epidemiology and Prevention*. New York: Oxford University Press, 1996.
- Schwartz MW, Sipols AJ, Marks JL, Sanacora G, White JD, Scheurink A, Kahn SE, Baskin DG, Woods SC, Figlewicz DP. Inhibition of hypothalamic neuropeptide Y gene expression by insulin. *Endocrinology* 1992; 130: 3608-3616.
- Schwartz MW, Boyko EJ, Kahn SE, Ravussin E, Bogardus C. Reduced insulin secretion: an independent predictor of body weight gain. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1571-1576.
- Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D Jr. Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med* 1996; 2: 589-593.

Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seely RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000; 404: 661-671.

Seeley RJ, Matson CA, Chavez M, Woods SC, Dallman MF, Schwartz MW. Behavioral, endocrine, and hypothalamic responses to involuntary overfeeding. *Am J Physiol* 1996; 271: R819-R823.

Segal KR, Van Loan M, Fitzgerald PI, Hodgson JA, Van Itallie TB. Lean body mass estimating by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study. *Am J Clin Nutr* 1988; 47: 7-14.

Seidell JC, Muller DC, Sorkin JD, Andres R. Fasting respiratory exchange ratio and resting metabolic rate as predictors of weight gain: the Baltimore Longitudinal Study on Aging. *Int J Obes* 1992; 16: 667-674.

Seidell JC, Deerenberg I. Obesity in Europe. Prevalence and consequences for use of medical care. *PharmacoEconomics* 1994; 5: 38-44.

Seidell JC, Verschuren WM, Kromhout D. Prevalence and trends of obesity in The Netherlands 1987-1991. *Int J Obes* 1995; 19: 924-927.

Seidell JC, Obesity in Europe: scaling an epidemic. *Int J Obes* 1995; 19: S1-S4.

Serra-Majem L, Ribas Barba L, García Closas R, et al. Avaluació de l'estat nutricional de la població catalana (1992-93). Avaluació del hàbits alimentaris, el consum d'aliments, energia i nutrients, i de l'estat nutricional mitjançant indicadors bioquímics i antropomètrics. Barcelona: Generalitat de Catalunya. Departament de Sanitat i Seguretat Social, 1996.

Serrero G, Mills D. Decrease in transforming growth factor beta 1 binding during differentiation of rat adipocyte precursors in primary culture. *Cell Growth Differ* 1991; 2: 173-178.

Sharp PA, Sugden B, Sambrook J. Detection of two restriction endonuclease activities in *Haemophilys parainfluenzae* using analytical agarose. *Biochemistry* 1973; 12: 3055.

Shinohara E, Kihara S, Yamashita S. Visceral fat accumulation as an important risk factor for obstructive sleep apnea syndrome in obese subjects. *J Int Med* 1997; 241:11-18.

Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K, Aizawa-Abe M, Miyanaga F, Takaya K, Hayashi T, Inoue G, Hosoda K, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuro peptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 2001; 50: 227-232.

Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, Garcia-Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC, Madge LA, Schechner JS, Schwabb MB, Polverini PJ, Flores-Riveros JR. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998; 281: 1683-1686.

Siiteri PK. Adipose tissue as a source of hormones. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 277-282.

Sinha MK, Opentanova J, Ohannesian JP, Kolaczynski JW, Heiman ML, Hale J, Bcker GW, Bowsher RR, Stephens TW, Caro JF. Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest* 1996; 98: 1277-1282.

Sipols AJ, Baskin DG, Schwartz MW. Effect of intracerebroventricular infusion on diabetic hyperphagia and hypothalamic neuropeptide gene expression. *Diabetes* 1995; 44: 147-151.

Sobal J, Stunkard AJ. Socioeconomic status and obesity: a review of the literature. *Psychological Bulletin* 1989; 105: 260-262.

Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO). Consenso SEEDO'2000 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Nutr Obes* 2000; 3: 285-289.

Spraul M, Ravussin E, Fontvieille AM, Rising R, Larson DE, Anderson EA. Reduced sympathetic nervous activity. A potential mechanism predisposing to body weight gain. *J Clin Invest* 1993; 92: 1730-1735.

Stam-Moraga MC, Kolanowski J, Dramaix M, De Backer G, Kornitzer MD. Trends in the prevalence of obesity among Belgian men at work between 1977 and 1992. *Int J Obes* 1998; 22: 988-992.

Stanley BG, Kyrkouli SE, Lampert S, Leibowitz SF. Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides* 1986; 7: 1189-1192.

Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, Hale J, Hoffmann J, Hsiung HM, Kriauciunas A, Mckellar W, Rosteck PR, Schoner B, Smith D, Tinsley FC, Zhang XY, Heiman M. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 1995; 377: 530-532.

Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 307-312 (a).

Steppan CM, Brown EJ, Wright CM, Bhat S, Banerjee RR, Dai CY, Enders GH, Silberg DG, Wen X, Wu GD, Lazar MA. A family of tissue-specific resistin-like molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 502-506.

Stolk R, Janssen J, Pols H, Englaro P, Blum W, Atanasio A, Grobbee D, Lamberts S. Insulin and leptin are related independently from body mass index. *Diabetologia* 1997; 40: A262.

Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Gen* 1998;18: 213-215.

Strohl KP. Tumor necrosis factor and sleep apnea. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 153: 893.

Stunkard AJ, Sorensen TI, Hanis C, Teasdale TW, Chakraborty R, Schull WJ, Schulsinger F. An adoption study of human obesity. *N Engl J Med* 1986; 314: 193-198.

Syngal S, Coakley EH, Willett WC, Byers T, Williamson DF, Colditz GA: Long-Term Weight Patterns and Risk for Cholecystectomy in Women. *Ann Intern Med* 1999, 130: 471-477.

Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, Mori K, Komatsu Y, Usui T, Shimatsu A, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4908-49011.

Taniguchi A, Kataoka K, Konto T, Oseko F, Okuda H, Nagata I, Imura H. Parathyroid hormone-induced lipolysis in human adipose tissue. *J Lipid Res* 1987; 28: 490-494.

Taskinen MR. Insulin resistance and lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1995; 6: 153-160.

Thim L, Kristensen P, Larsen PJ, Wulff BS. CART, a new anorectic peptide. *J Biochem Cell Biol* 1998; 30: 1281-1284.

Tormo Díaz MJ, Navarro Sánchez C. Factores de riesgo cardiovasculares en la Región de Murcia 1992. Serie informes 20. Murcia. Consejería de Sanidad y Asuntos Sociales, 1995.

Tremblay A, Plourde G, Despres JP, Bouchard C. Impact of dietary fat content and fat oxidation on energy intake in humans. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 799-805.

Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908-913.

Turpeinen A, Haffner S, Louheranta A, Niskanen L, Miettinen H, Uusitupa M. Serum leptin in subjects with impaired glucose tolerance in relation to insulin sensitivity and first-phase insulin response. *Int J Obes* 1997; 21:284-287.

Vaisse C, Clement K, Guy-Grand B, Froguel P. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat Gen* 1998; 20: 113-114.

Vaisse C, Clement K, Durand E, Hercberg S, Guy-Grand B, Froguel P. Melanocortin-4 receptor mutations are a frequent and heterogeneous cause of morbid obesity. *J Clin Invest* 2000; 106: 253-262.

Valdez R, Mitchell BD, Haffner SM, Hazuda HP, Morales PA, Monterrosa A, Stern MP. Predictors of weight change in a bi-ethnic population. The San Antonio Heart Study. *Int J Obes* 1994; 18: 85-91.

Valtueña S, Sola R, Salas-Salvado J. A study of the prognostic respiratory markers of sustained weight loss in obese subjects after 28 days on VLCD. *Int J Obes* 1997; 21(4): 267-273.(a)

Valtueña S, Salas-Salvado J, Lorda PG. The respiratory quotient as a prognostic factor in weight-loss rebound. *Int J Obes* 1997; 21(9): 811-817.(b)

Van Itallie TB. Health implications of overweight and obesity in the United States. *Ann Int Med* 1985; 103: 983-938.

Van Itallie ThB. Worldwide epidemiology of obesity. *Pharmacoeconomics* 1994; 5: 1-7.

Vgontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO, Hopper K, Lotsikas A, Lin HM, Kales A, Chrousos GP. Sleep apnea and daytime sleepiness and fatigue: relation to visceral obesity, insulin resistance, and hypercytokinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1151-1158.

Vidal-Puig A, Solanes G, Grujic 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.

Virgili J, Casals I, Estruch J, Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. Identificación de oleato de estrona en plasma de tejido adiposo blanco. Determinación por HPLC-EM. XX Congreso de la SEBBM, Madrid, p85, (abstract). 1997.

Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999; 282: 2131-2135.

Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Low-grade systemic inflammation in overweight children. *Pediatrics* 2001; 107:1-6.

Voigt LF, Koepsell TD, Nelson JL, Dugowson CE, Daling JR. Smoking, obesity, alcohol consumption, and the risk of rheumatoid arthritis. *Epidemiology* 1994; 5: 525-532.

Vrang N, Tang-Christensen M, Larsen PJ, Kristensen P. Recombinant CART peptide induces c-Fos expression in central areas involved in control of feeding behaviour. *Brain Res* 1999; 818: 499-509.

Wabitsch M, Hauner H, Heinze E, Bockmann A, Benz R, Mayer H, Teller W. Body fat distribution and steroid hormone concentrations in obese adolescent girls before and after weight reduction. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3469-3475.

Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocrine Rev* 2000; 21: 697-738.

Walder K, Morris C, Ravussin E. A polymorphism in the gene encoding CART is not associated with obesity in Pima Indians. *Int J Obes* 2000; 24: 520-521.

Wallace AM. Measurement of leptin and leptin binding in the human circulation. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 244-252.

Wang Y, Kuropatwinski KK, White DW, Hawley TS, Hawley RG, Tartaglia LA, Baumann H. Leptin receptor action in hepatic cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 16216-16223.

Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann Int Med* 1990; 113: 909-915.

Weir JB. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol* 1949; 109: 1-9

Weststrate JA, Dekker J, Stoel M, Begheijn L, Deurenberg P, Hautvast JG. Resting energy expenditure in women: impact of obesity and body-fat distribution. *Metab Clin Exp* 1990; 39: 11-17.

White JD, Kershaw M. Increased hypothalamic neuropeptide Y expression following food deprivation. *Mol Cell Neurosc* 1989; 1: 41-48.

White RT, Damm D, Hancock N, Rosen BS, Lowell BB, Usher P, Flier JS, Spiegelman BM. Human adiponin is identical to complement factor D and is expressed at high levels in adipose tissue. *J Biol Chem* 1992; 267: 9210-9213.

WHO MONICA Project: Risk factors. *Int J Epidemiol* 1989; 18: S46-S55.

WHO. Programme of Nutrition, Family and Reproductive Health. Obesity. Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Geneva, 3-5 June. Geneva: WHO, 1998.

Wilding JP, Gilbey SG, Bailey CJ, Batt RA, Williams G, Ghatei MA, Bloom SR. Increased neuropeptide-Y messenger ribonucleic acid (mRNA) and decreased neurotensin mRNA in the hypothalamus of the obese (ob/ob) mouse. *Endocrinology* 1993; 132: 1939-1944.

Woods SC, Porte D Jr. Insulin and the set-point regulation of body weight. pp. 273-80. In: Novin D et al., ed. *Hunger: basic mechanisms and clinical implications*. New York, Raven Press, 1975. WI 102 H936 1975.

Woods SC, Chavez M, Park CR, Riedy C, Kaiyala K, Richardson RD, Figlewicz DP, Schwartz MW, Porte D, Seeley RJ. The evaluation of insulin as a metabolic signal influencing behavior via the brain. *Neuro Biobehav Rev* 1996; 20: 139-144.

Wu D, Yang J, Pardridge WM. Drug targeting of a peptide radiopharmaceutical through the primate blood-brain barrier in vivo with a monoclonal antibody to the human insulin receptor. *J Clin Invest* 1997; 100: 1804-1812.

Yeo GSH, Farooqi IS, Aminian S, Halsall DJ, Stanhope RG, O'Rahilly S. A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nat Gen* 1998; 20: 111-112.

Yki-Järvinen H. Role of insulin resistance in the pathogenesis of NIDDM. *Diabetologia* 1995; 30:1378-1388.

Yoshiike N, Matsmura Y, Zaman MM, Yamaguchi M. Descriptive epidemiology of body mass index in Japanese adults in a representative sample from the National Nutrition Survey. *Int J Obes* 1998; 22: 684-687.

Yost TJ, Jensen DR, Eckel RH. Weight regain following sustained weight reduction is predicted by relative insulin sensitivity. *Obes Res* 1995; 3: 583-587.

Yubero P, Graupera M, Esteve M, Vilà R, Grasa MM, Cabot C, Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. Efecto del tratamiento crónico intravenoso con oleoil-estrone en liposomas sobre la expresión de las proteínas desacopladoras UCP-1 y UCP-3 en la rata. *Nutr Clin* 1998; 18: 303.

Yubero P, Graupera M, Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. Estimulación directa por la oleoil-estrone de la lipólisis en células adiposas humanas aisladas. *Nutr Obes* 1999; Suppl 1: 15 (abstract).

Yudkin JS, Stehouwer CDA, Emels JJ, Coppack SW. C-Reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction. A potential role for cytokines originating from adipose tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 972-978.

Zarjevsky N, Cusin I, Vettor F, 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.



Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-432.

Zhou YP, Grill VE. Long-term exposure of rat pancreatic islets to fatty acids inhibits glucose-induced insulin secretion and biosynthesis through a glucose fatty acid cycle. *J Clin Invest* 1994; 93: 870-876.

Ziegler O, Debry G. Epidemiologie des obesités dell'adulte. *Encycl Med Chir. Endocrinologie-Nutrition* 10-506-B-20, 1998, 7p.

Zimmet PZ. Challenges in diabetes. Epidemiology from West to the rest. *Diab Care* 1991; 15: 235-252.

Zorad S, Fickova M, Zelezna B, Macho L, Kral JG. The role of angiotensin II and its receptors in regulation of adipose tissue metabolism and cellularity. *Gen Physiol Biophys* 1995; 14: 383-391.

Zouali H, Velho G, Froguel P. Polymorphism of the glycogen synthase gene and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 328: 1568.

Zurlo F, Lillioja S, Esposito-Del Puente A, Nyomba BL, Raz I, Saad MF, Swinburn BA, Knowler WC, Bogardus C, Ravussin E. Low ratio of fat to carbohydrate oxidation as predictor of weight gain: study of 24-h RQ. *Am J Physiol* 1990; 259: E650-E657.

Zurlo F, Ferraro RT, Fontvielle AM, Rising R, Bogardus C, Ravussin E. Spontaneous physical activity and obesity: cross-sectional and longitudinal studies in Pima Indians. *Am J Physiol* 1992; 263: E296-E300.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
EFECTO DE LA ADIPOSIDAD SOBRE EL SISTEMA TNF $\alpha$ -LEPTINA  
Mònica Bulló Bonet  
ISBN: 978-84-691-1902-0/DL: T-355-2008

**ANEXOS**

## ANEXO I .

### La leptina en la regulación del balance energético

*Nutrición Hospitalaria* (aceptado para publicación)

## **LA LEPTINA EN LA REGULACIÓN DEL BALANCE ENERGÉTICO**

**Mònica Bulló Bonet**

Unitat de Nutrició Humana. Facultat de Medicina i Ciències de la Salut de Reus

Universitat Rovira i Virgili

**Para correspondencia:**

Mònica Bulló i Bonet

Unidad de Nutrición Humana

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de Reus

Universitat Rovira i Virgili

C/ Sant Llorenç, 21 · 43201 Reus

Tel. 977 75 93 13 · Fax. 977 75 93 22

e-mail: [mbullo@fmcs.urv.es](mailto:mbullo@fmcs.urv.es)

## Resumen

La leptina, identificada en el año 1994 como una sustancia sintetizada en el tejido adiposo en cantidades proporcionales a la magnitud de las reservas grasas, se ha descrito como un factor importante en la regulación de la homeostasis energética del organismo, puesto que es capaz de inhibir la ingesta, estimular el gasto energético y regular otros procesos metabólicos periféricos implicados en el control de la expansión de la grasa corporal (secreción de insulina, lipólisis, transporte de glucosa). Sin embargo, la leptina es una sustancia pleiotrópica involucrada también en procesos de fertilidad, inflamación, en la angiogénesis y en las alteraciones del sueño asociadas a la obesidad, entre otros.

Si bien estas acciones han estado bien delimitadas en algunos modelos animales de obesidad, el papel que juega la leptina en el hombre es menos claro, puesto que, al menos a nivel hipotalámico, parece existir una importante resistencia a los efectos de esta hormona. Los estudios administrando leptina recombinante realizados recientemente en humanos no aportan resultados suficientemente esperanzadores, puesto que no consiguen pérdidas de peso mayores a las que podemos obtener con otros fármacos existentes en el mercado actual y su administración subcutánea provoca algunos efectos secundarios indeseables. De todos modos, los resultados obtenidos deben ser considerados con cautela, siendo necesarios más estudios referidos a la actividad biológica de la leptina en humanos que permitan determinar la repercusión clínica de la administración de esta hormona.

**Palabras clave:** leptina, obesidad, endocrinología, neuropéptidos.

## INTRODUCCIÓN

La utilización de los recursos energéticos y el mantenimiento del peso corporal está fuertemente regulado en el hombre, involucrándose en ello diversos factores de tipo genético, fisiológico y ambiental. A pesar de que diversos estudios de heredabilidad han sugerido que aproximadamente entre el 40% y el 70% de la variabilidad en el peso corporal puede ser atribuida a factores genéticos (1,2), el incremento en la prevalencia de la obesidad que se ha observado en las últimas décadas en la mayoría de los países desarrollados no puede explicarse mediante mecanismos de mutación genética. Así pues el importante cambio en los hábitos dietéticos asociados a una mayor disponibilidad, apetencia y contenido graso de los alimentos, así como la disminución de la actividad física diaria, se han sugerido como los principales factores determinantes del incremento de la prevalencia de este síndrome metabólico.

La estabilidad del peso y la composición corporal del organismo durante un largo periodo de tiempo requiere un adecuado equilibrio entre el aporte y el gasto energético del individuo (3,4). Puesto que pequeños cambios en la ingesta energética pueden ser contrarrestados favorablemente por el organismo sin que se afecte el peso corporal, el incremento o la disminución de la magnitud de las reservas grasas del organismo debe obedecer, sin lugar a dudas, a un desbalance crónico entre el aporte y el gasto energético del organismo así como a una desregulación del balance de nutrientes (5).

Algunas sustancias que se sintetizan de manera pulsátil coincidiendo con los ritmos circadianos, ciertas señales metabólicas que reflejan la utilización de los diversos sustratos energéticos y la liberación de péptidos gastrointestinales, pueden regular a corto plazo la ingesta de alimentos y el gasto energético. Puesto que estas señales no se generan en proporción a los requerimientos energéticos del organismo debe existir un sistema biológico de regulación del balance energético a largo plazo tradicionalmente atribuido a las neuronas hipotalámicas. En el año 1953 se postuló la teoría lipostática en la cual se describía un sistema

de señales aferentes, probablemente de naturaleza hormonal, encargadas de informar al cerebro de los cambios en la adiposidad corporal y de generar una cascada de señales aferentes dirigidas al control de la expansión de la grasa mediante la regulación de la ingesta y el control del gasto energético (6). A pesar de que se han sugerido diversas sustancias que podrían actuar como adipostatos, entre ellas la insulina (7) y los glucocorticoides (8), en la actualidad la que mejor se adapta a esta función es, sin lugar a dudas, la leptina (9).

## **LA LEPTINA**

En 1994 el grupo de Friedman y colaboradores consiguió identificar y aislar el gen *ob* que codifica la leptina, una proteína sintetizada mayoritariamente en adipocitos animales y humanos y que se libera a la circulación de manera proporcional a la magnitud de las reservas grasas (9-13). La administración intravenosa de esta proteína a una cepa de ratones genéticamente obesos (*ob/ob*) y deficientes en la síntesis de leptina provocaba la pérdida de masa grasa del animal debida básicamente a la disminución de la ingesta y al incremento de la termogénesis, sin que se modificara la cantidad de masa magra del animal (14). Puesto que el control de la ingesta y el gasto energético se ha situado clásicamente a nivel hipotalámico, se sugirió que muy probablemente esta proteína debería tener su efecto a nivel central. La identificación de receptores hipotalámicos de leptina (15) y la mayor sensibilidad a los efectos de esta proteína cuando se administraba directamente a nivel intracerebroventricular (16) corroboran esta hipótesis.

Al igual que sucede con los modelos animales, la deficiencia genética de leptina en humanos se asocia a una profunda hiperfagia y a obesidad mórbida, así como también a otras alteraciones neuroendocrinas (17,18). La única mutación descrita hasta la actualidad en el gen del receptor de leptina se relaciona también con el incremento de la edad de inicio de la obesidad y con un retraso en el desarrollo puberal de los individuos afectados, así como una disminución de la secreción de la hormona de crecimiento y de la tirotrópina (19). Tras la administración crónica de leptina recombinante a un paciente con un déficit congénito en la

síntesis de leptina, se observó una disminución del apetito y un incremento del gasto energético con la consecuente pérdida de peso corporal (20). Estos resultados son pues la mayor evidencia de que la leptina puede ejercer, también en el hombre, un importante control endocrino y ponderal.

Exceptuando estas alteraciones genéticas observadas en pocos individuos pertenecientes a distintas familias, la mayoría de los pacientes obesos no presentan ninguna deficiencia en los niveles circulantes de leptina. Contrariamente, todos los estudios observan un marcado incremento de la expresión y la síntesis de esta proteína, siendo los niveles plasmáticos de leptina proporcionales a la magnitud de las reservas grasas del organismo. Parece pues que, al menos en el hombre, existe una resistencia a esta hormona que muy probablemente sea debida a la saturación del sistema de transporte de esta proteína a nivel del líquido cerebroespinal (21). El hecho de que el incremento de los niveles plasmáticos de leptina no se traduzca en un incremento de la concentración de esta sustancia en el fluido cerebroespinal, y que tras la administración periférica de leptina exógena el incremento de la concentración de esta hormona a nivel del líquido cefalorraquídeo (LCR) difiera considerablemente del incremento de las concentraciones séricas (22), corroboran esta hipótesis.

La leptina se ha considerado también como un factor metabólico predictor de la ganancia de peso corporal y la obesidad, independientemente de la disminución de la tasa metabólica o la sensibilidad a la insulina. Así pues en un estudio longitudinal realizado en indios Pima se observó que aquellos pacientes que presentaban una baja secreción de leptina tenían una mayor ganancia de peso corporal en relación con pacientes del mismo peso pero con una mayor secreción de leptina (23). Del mismo modo, en un estudio reciente se ha observado una estrecha relación entre las menores concentraciones de leptina circulante en sangre del cordón umbilical y la mayor ganancia de peso corporal a los 4 meses del nacimiento, sugiriéndose pues que la leptina puede actuar como factor predictor del peso corporal tras el