

nacimiento, al menos antes de que se establezca la resistencia a esta hormona en el hombre (24).

Todas estas observaciones plantean importantes dudas en la posible eficacia terapéutica de esta proteína. Los únicos estudios administrando de forma crónica leptina recombinante durante un periodo de tiempo prolongado a pacientes obesos o en normopeso, observan una ligera pérdida de peso corporal debida a la disminución de la masa grasa, aunque esta pérdida de peso es de la misma magnitud de la que se consigue con otros fármacos existentes en el mercado (25,26).

### **FUNCIONES DE LA LEPTINA EN EL CONTROL DE LAS RESERVAS GRASAS**

La leptina se identificó inicialmente como una sustancia implicada en la regulación del metabolismo energético, la ingesta calórica y la oxidación de grasas. Actualmente se describe como una sustancia pleiotrópica que se involucra también en otros aspectos fisiológicos como el desarrollo puberal y la fertilidad (27), en procesos de inflamación (28-30) y en la regulación del sistema inmunitario (31), en el síndrome de las apneas obstructivas del sueño (32,33), así como en procesos de angiogénesis (34), hematopoyesis y fibrinogénesis (35).

La acción de la leptina sobre la homeostasis energética del organismo se ejerce directamente sobre el sistema nervioso central, mediante la activación de la transmisión sináptica (36), la activación de canales de potasio con la consecuente hiperpolarización de las neuronas hipotalámicas afectadas (37) y sobretodo la regulación de la síntesis de neuromoduladores relacionados con el control de la ingesta y de la termogénesis (38). De hecho diversos neuropéptidos y sustancias afines relacionadas con estos mecanismos de regulación de la homeostasis energética se sintetizan en núcleos hipotalámicos concretos, en los cuales se ha identificado también la expresión de receptores funcionales de leptina (Figura 1).

Se han descrito hasta la actualidad dos importantes vías neuronales distintas con efectos anabólicos y catabólicos a través de las cuales parece canalizarse la interacción leptina-receptor en el hipotálamo, la vía del neuropéptido Y (NPY), planteada apenas medio año después de la identificación de la leptina (16,39) y la vía de la hormona estimuladora de melanocitos (MSH), a pesar de que otros neuropéptidos y sustancias relacionadas con el control homeostático podrían también estar regulados por esta hormona (Tabla I).

El neuropéptido Y pertenece a la familia de los polipéptidos pancreáticos y se sintetiza en las neuronas periféricas del sistema nervioso simpático en situaciones de restricción calórica, durante el periodo de lactancia o durante un ejercicio intenso (40,41). Este neuropéptido provoca hiperfagia y facilita el aumento de las reservas de grasa (42-44), incrementando la expresión y la actividad de la lipoproteína lipasa adipocitaria (45), estimulando la lipogénesis hepática y adipocitaria e incrementando la secreción de insulina y glucocorticoides (46). Puesto que la administración de leptina a ratones ob/ob, los cuales sobreexpresan el NPY hipotálamico además de presentar un fenotipo obeso (47), atenúa la expresión de este neuropéptido y reduce el peso corporal, se ha sugerido que al menos parte de los efectos anorexígenos de la leptina puedan estar mediados a través de la modulación de la expresión del neuropéptido Y. No obstante, este no puede ser el único mecanismo, ya que la administración de leptina a ratones deficientes en la síntesis de NPY, provoca también una importante disminución de la ingesta (48). Por lo tanto, deben existir otros sistemas con acción complementaria a la actividad del neuropéptido Y, los cuales pueden ser potencialmente modulados por la leptina.

Además del efecto inhibitor de la leptina sobre algunas de las vías orexígenas, esta hormona ejerce también una importante acción potenciadora de las vías anorexígenas del organismo, entre ellas el sistema de las melanocortinas (49,50). Estas sustancias se generan a partir de la hidrólisis de un precursor común, la proopiomelanocortina, siendo la hormona estimuladora de los alfa melanocitos (MSH), el péptido más implicado en el control de la ingesta y del peso

corporal. Las melanocortinas son reconocidas por receptores específicos (MCR), de los cuales, únicamente las mutaciones que afectan al receptor hipotalámico MCR-4 se han asociado a la obesidad (51,52). Recientemente se han descrito también algunos antagonistas para los receptores de melanocortinas de tipo MCR-3 y MCR-4, cuya sobreexpresión se traduce en un fenotipo de obesidad. Así pues, algunas mutaciones del péptido agouti sintetizado habitualmente en la piel y en los folículos pilosos, provocan una expresión generalizada de este péptido en tejidos donde habitualmente no se expresa pudiendo de ese modo antagonizar las acciones mediadas por el MCR-4 y por tanto se asocia a obesidad (53). Otro neuropéptido de reciente descripción, el péptido relativo al péptido agouti (AGRP), normalmente expresado en el núcleo arcuado del cerebro y estimulado cuando existe un déficit de leptina, funciona también como antagonista de los receptores MCR-3 y MCR-4 y por tanto se relaciona también con la obesidad (54).

Sin embargo, la leptina ejerce también diversos efectos sobre órganos periféricos regulando la actividad de ciertas vías metabólicas, sobretodo relacionadas con el metabolismo lipídico y la deposición de la grasa (Figura 2). Así pues se ha descrito que esta proteína inhibe la secreción de insulina en las células beta pancreáticas (55,56), activa la utilización de glucosa sobretodo a nivel del músculo esquelético (57), reduce la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos (58) a través de la inhibición de la Acetil-CoA carboxilasa (59), incrementa la actividad lipolítica adipocitaria (60) y el transporte de azúcares a través de las paredes del intestino corto (61), todo ello dirigido a frenar la expansión de las reservas grasas del organismo.

A pesar de esta regulación del peso corporal a largo plazo, en la cual cabe destacar sin duda el efecto regulador de la leptina, recientemente se ha sugerido que la leptina podría también ejercer un importante control metabólico a corto plazo mediante la interacción con algunas de las señales metabólicas de saciedad (62-64). La reciente descripción de la síntesis de leptina en la mucosa gástrica y su regulación mediante la administración de CCK-8 corroboran esta hipótesis (65).

## **REGULACIÓN DE LOS NIVELES DE LEPTINA**

A pesar de que existen diversos estudios realizados, tanto en animales como en humanos, que intentan dilucidar las diferentes sustancias implicadas en la regulación de la expresión y la síntesis de leptina, existe todavía una gran controversia al respecto (66). El tamaño de las reservas grasas del organismo y la presencia de un balance energético positivo se han sugerido como importante inductores de la expresión de leptina (67). Sin embargo, otras sustancias hormonales como los glucocorticoides (68), las catecolaminas (69) o la insulina (70), así como algunos metabolitos intermediarios como ciertos ácidos grasos (71), el cAMP (72,73), la glucosa (74) o algunas citoquinas (75) también han sido involucradas en el complejo sistema de regulación de esta hormona (Tabla II).

Diversos estudios realizados tanto en animales de experimentación como en humanos han observado que la modificación de la magnitud de las reservas grasas, a través de un control dietético, al tratamiento quirúrgico, o bien a un estado experimental de sobrealimentación, se traducen en cambios importantes de la concentración de los niveles circulantes de leptina (76). Sin embargo, la modificación de los niveles de leptina con estas situaciones no es de la misma magnitud que los esperados por los cambios producidos en el tamaño de las reservas grasas. Por ello parecen existir otros factores moduladores de la expresión y síntesis de esta hormona.

El sexo es un importante factor determinante de los niveles plasmáticos de leptina puesto que para un mismo grado de adiposidad las mujeres presentan concentraciones mayores de leptina en plasma (77,78). También existen importantes diferencias en función de la distribución corporal de la grasa, siendo el tejido adiposo subcutáneo el que expresa una mayor cantidad de leptina referida a unidad celular (79). Las variaciones de los niveles de leptina que se observan tras el ayuno o la realimentación (80), así como el aumento nocturno de las concentraciones circulantes de esta hormona en el hombre (81), se han asociado a un efecto retardado de la secreción de insulina, a pesar de que la relación que pueda existir entre

ambas hormonas todavía no está clara en humanos (82,83), puesto que mientras algunos observan que la insulina actúa como potenciador de la expresión génica de la leptina (84,85), otros no observan ningún efecto (68,80). Estas discrepancias podrían atribuirse a diferencias en la duración de los estudios, puesto que la respuesta de la leptina a la administración de insulina en humanos parece producirse mucho más lentamente que en roedores. Un estudio reciente ha sugerido que, al menos una parte de los efectos de la insulina sobre la síntesis de leptina, podrían estar indirectamente mediados por los niveles circulantes de glucosa (86).

Se ha sugerido que ambas hormonas podrían formar parte de un complejo sistema de contraregulación (87), puesto que si bien la insulina es capaz de modular las concentraciones de leptina y por tanto de regular sus efectos anorexígenos, la leptina es también capaz de regular los valores circulantes de insulina, bien sea través de la inhibición de la secreción pancreática de leptina (88,89), a través de la actividad del sistema nervioso simpático (90) o interaccionando con la transmisión de la señal de insulina hacia el interior de las células mediante la inhibición de la autofosforilación del receptor de la insulina (IR) o de la fosforilación del sustrato 1 de este receptor (IRS-1) (91). Así pues tras una situación de sobrealimentación, incrementarían las concentraciones plasmáticas de insulina, activando la síntesis de leptina y por tanto potenciando los mecanismos de prevención del almacenamiento de grasa en el organismo. Poco conocemos sobre los mecanismos moleculares involucrados en la regulación de la síntesis de leptina mediada por insulina, aunque se han implicado algunos factores de transcripción relacionados también con los mecanismos de diferenciación adipocitaria. Así pues la expresión génica de la leptina parece estar regulada conjuntamente por dos factores de transcripción que actuarían según modelos opuestos, el PPAR $\gamma$ , como factor inhibidor de la expresión (92), y el C/EBP $\alpha$  que induce la expresión génica (93).

El sistema TNF (en especial los niveles plasmáticos de los receptores solubles de TNF), se ha involucrado también en la fisiopatología de la obesidad y de la resistencia a la insulina (94,95). De hecho diversos estudios apoyan la hipótesis de que si bien el TNF puede actuar

directamente sobre diversos mecanismos implicados en el control de las reservas grasas del organismo es también un importante regulador de la síntesis y la expresión de la leptina (96,97). Sin embargo, existen importantes discrepancias entre los diferentes estudios que evalúan este efecto. Así, mientras algunos autores observan un incremento en la producción de leptina tras la administración de TNF (98,99), otros observan un efecto inhibitor (75,100). Recientemente, Zhang y colaboradores han descrito un efecto dual del TNF sobre la síntesis de leptina en función del estado de diferenciación de los adipocitos (101).

A pesar de todos estos estudios nos encontramos todavía lejos de comprender el complejo sistema de regulación de las reservas grasas y sobretodo lejos de poder aplicar alguna terapia efectiva para el tratamiento de las patologías asociadas a la desregulación del balance energético corporal.

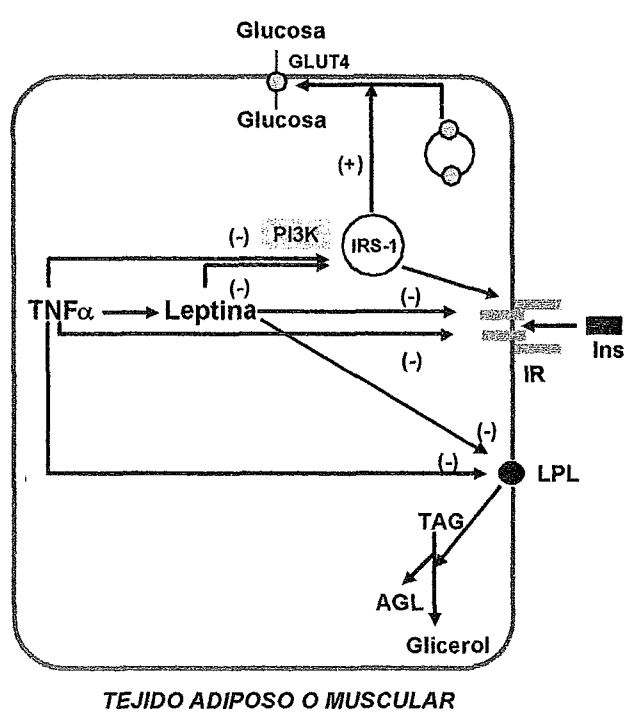
**Tabla I.** Moléculas candidatas involucradas en el control hipotalámico del balance energético.

<b>EFACTORES CATABÓLICOS</b>	<b>EFACTORES ANABÓLICOS</b>
Leptina	Neuropéptido Y (NPY)
Hormona estimuladora de $\alpha$ -melanocitos (MSH- $\alpha$ )	Hormona concentradora de melanocitos (MCH)
Hormona liberadora de corticotropina (CRH)	Péptido relativo al péptido agouti (ARP)
Cocaine-and amphetamine-regulated transcript (CART)	Orexina A y B
Colecistoquinina (CCK)	Galanina
Péptido similar al glucagón (GLP-1)	Beta-endorfina
Bombesina	Dinorfina
Somatostatina	Hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH)
Hormona liberadora de tirotrópina (TRH)	Norepinefrina (NE)
Péptido relativo al gen de la calcitonina	
Neurotensina	
Serotonina	

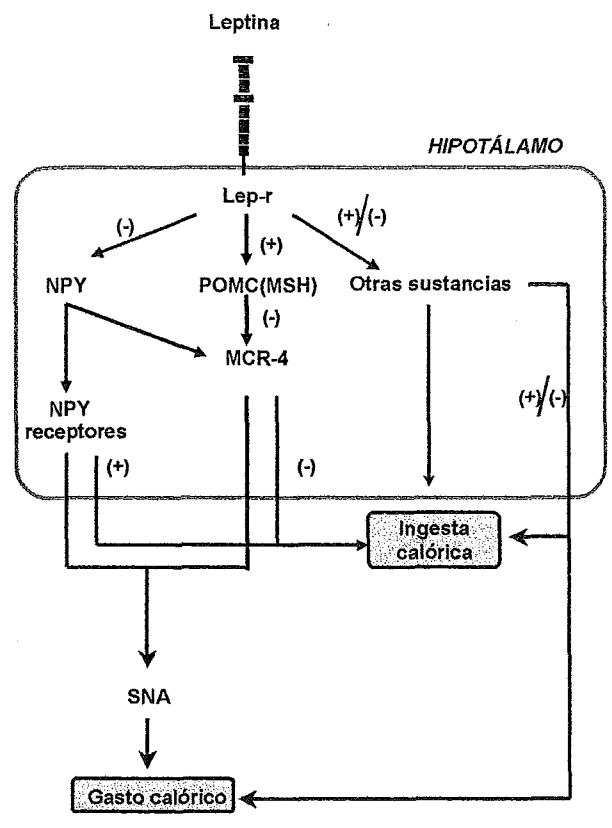
**Tabla II.** Factores reguladores de la síntesis de leptina en el hombre.

<b>NIVELES DE LEPTINA</b>	
<b>INCREMENTO</b>	<b>DISMINUCIÓN</b>
Obesidad	Delgadez
Balance energético positivo	Balance energético negativo
Adiposidad subcutánea	Adiposidad visceral
Sexo femenino	Sexo masculino
Ritmos circadianos nocturnos	Ritmos circadianos diurnos
Inhibición del SNS	Activación del SNS

**Figura 1.** Esquema de la regulación del balance energético a nivel hipotalámico mediado por la leptina.



**Figura 2.** Efectos de la leptina sobre el tejido adiposo y muscular.





## BIBLIOGRAFÍA

1. Comuzzie AG, Allison DB: The search for human obesity genes. *Science*, 1998, 280: 1373-1377.
2. Rosenbaum M, Leibel RL, Hirsch J: Obesity. *N Engl J Med*, 1997, 337: 396-407.
3. Kessey RE, Powley TL: The regulation of body weight. *Ann Rev Psychol*, 1986, 37: 109-133.
4. Stallone DD, Stunkard AJ: The regulation of body weight: evidence and clinical implications. *Ann Behav Med*, 1991, 13: 220-230.
5. Flatt J: Dietary fat, carbohydrate balance and weight maintenance: effect of exercise. *Am J Clin Nutr*, 1987, 45: 296-306.
6. Kennedy GC: The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 1953, 140: 579-592.
7. Woods SC, Porte D: Insulin and the set-point regulation of body weight. Novin D, Bray GA, Wyrwichka W eds. *Hunger: basic mechanisms and clinical implications*. New York: Raven Press, 1976: 273-280.
8. Dallman MF, Strack AM, Akana SF, et al: Feast and famine: critical role of glucocorticoids with insulin in daily energy flow. *Front Neuroendocrinol*, 1993, 14: 303-347.
9. 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.
10. Moinat M, Deng C, Muzzin P, et al: Modulation of obese gene expression in rat brown and white adipose tissues. *FEBS Lett*, 1995, 373: 131-134.
11. Señaris R, García- Caballero T, Casabiell X, et al: Synthesis of leptin in human placenta. *Endocrinology*, 1997, 138: 4501-4504.
12. Bado A, Levasseur S, Attoub S, et al: The stomach is a source of leptin. *Nature*, 1998, 394: 790-793.
13. Lonqvist F, Norfords L, Jansson M, et al: Leptin secretion from adipose tissue in women. Relationship to plasma levels and gene expression. *J Clin Invest*, 1997, 99: 2398-2404.
14. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, et al: Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*, 1995, 269: 540-543.
15. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, et al: Identification and expression cloning of a leptin receptor OB-R. *Cell*, 1995, 83: 1263-1271.
16. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, et al: The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature*, 1995, 377: 530-532.

17. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, et al: Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*, 1997, 387:903-908.
18. Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozara M, Strosberg AD: A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nature Genetics*, 1998, 18: 213-215.
19. Clément K, Vaisse C, Lahlous N, et al: A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*, 1998, 392: 398-401.
20. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G et al: Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med*, 1999, 341: 879-884.
21. Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D: Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med*, 1996, 2: 589-593.
22. Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, et al: Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet*, 1996, 348: 159-161.
23. Ravussin E, Pratley RE, Maffei M, et al: Relatively low plasma leptin concentrations precede weight gain in Pima Indians. *Nat Med*, 1997, 3: 238-240.
24. Ong KK, Ahmed ML, Sherrif A, et al: Cord blood leptin is associated with size at birth and predicts infancy weight gain in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84: 1145-1148.
25. Heymsfield SB, Greenberg AS, Fujikoa K, et al: Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults. A randomized, controlled, dose-escalation trial. *JAMA*, 1999, 282: 1568-1575.
26. Fujikoa K, Patane J, Lubina J, Lau D: CSF leptin levels after exogenous administration of recombinant methionyl human leptin. *JAMA*, 1999, 282: 1517-1518.
27. Mantzoros CS, Flier JS, Rogol AD: A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V: Rising leptin levels may signal onset of puberty. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 1065-1070.
28. Santos-Álvarez J, Goberna R, Sánchez-Margalet V. Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes. *Cel Immunol*, 1999, 194: 6-11.
29. Pickup JC, Chusney GD, Mattock MB. The innate immune response and type-2 diabetes: evidence that leptin is associated with stress-related (acute-phase)reaction. *Clin Endocrinol*, 2000, 52: 107-112.
30. Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J*, 1998, 12: 57-65.

31. Martín-Romero C, Santos-Álvarez J, Goberna R, Sánchez-Margalet V: Human leptin enhances activation and proliferation of human circulating T lymphocytes. *Cell Immunol*, 2000, 199:15-24.
32. Vgontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO, et al. Sleep apnea and daytime sleepiness and fatigue: relation to visceral obesity, insulin resistance, and hypercytokinemia. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85: 1151-1158.
33. Ip MS, Lam KS, Ho C, Tsang KW, Lam W. Serum leptin and vascular risk factors in obstructive sleep apnea. *Chest*, 2000, 118:580-586.
34. Rocio-Sierra M, Nath AK, Murakami C, et al: Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science*, 1998, 281: 1683-1686.
35. Gainsford T, Willson TA, Metcalf D, et al: Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hematopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 14564-14568.
36. Elmquist JK, Ahima RS, Elias CF, Flier JS, Saper CB: Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proc Natl Acad Sci*, 1998, 95: 741-746.
37. Spanswick D, Smith MA, Groppi VE, Logan SD, Ashford MLJ: Leptin inhibits hypothalamic neurons by activation of ATP-sensitive potassium channels. *Nature*, 1997, 390:521-525.
38. Baskin DG, Hahn TM, Schwartz MW: Leptin sensitive neurons in the hypothalamus. *Horm Metab Res*, 1999, 31: 345-350.
39. Bing C, Wantf Q, Pickavance L, Williams G: The central regulation of energy homeostasis: role of neuropeptide Y and other brain peptides. *Biochem Soc Trans*, 1996, 24: 559-565.
40. Hoffmann J, Hsiung HM, Kriauciunas A, et al: The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature*, 1995, 377: 530-532.
41. Wilding JPH, Gilbey SG, Bailey CJ, et al: 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.
42. Leibowitz SF: Hypothalamic neuropeptide Y, galanin, and amines: concepts of coexistence in relation to feeding behavior. *Proc Acad Sci*, 1990, 221-235.
43. 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.
44. Morley JE: Neuropeptide regulation of appetite and weight. *Endocr Rev*, 1987, 8: 256-287.

45. Billington CJ, Briggs JE, Grace M, Levine AS: Effects of intracerebroventricular injection of neuropeptide Y on energy metabolism. *Am J Physiol*, 1991, 260: R321-R327.
46. Zarjevski N, Cusin I, Vetter R, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B: Chronic intracerebroventricular neuropeptide-Y administration to normal rats mimics hormonal and metabolic changes of obesity. *Endocrinology*, 1993, 133: 1753-1758.
47. Chua SC, Brown AW, Kim J, Hennessey KL, Leibel RL, Hirsch J: Food deprivation and hypothalamic neuropeptide gene expression: effects of strain background and the diabetes mutation. *Mol Brain Res*, 1991, 11: 291-299.
48. Ericson JC, Clegg KE, Palmitier RD: Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. *Nature*, 1996, 381: 415-421.
49. Cone R, Lu D, Koppula S, et al: The melanocortin receptors: agonists, antagonists, and the hormonal control of pigmentation. *Recent Progr Horm Res*, 1996, 51: 287-318.
50. Schwartz M, Seeley R, Woods S, et al: Leptin increases hypothalamic proopiomelanocortin (POMC) mRNA expression in the rostral arcuate nucleus. *Diabetes*, 1997, 46: 2119-2123.
51. Mountjoy K, Mortud M, Low M, Simerly R, Cone R: Localization of the melanocortin-4 receptor (MCR-4) in neuroendocrine and autonomic control circuits in the brain. *Mol Endocrinol*, 1994, 8: 1298-1308.
52. Huszar D, Lynch C, Fairchild-Huntress V, et al: Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity mice. *Cell*, 1997, 88: 131-141.
53. Fan W, Boston B, Kesterson R, Hubry V, Cone R: Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature*, 1997, 385: 165-168.
54. Shutter J, Graham M, Kinsey A, Scully S, Luthy R, Stark K: Hypothalamic expression of ART, a novel gene related to agouti, is upregulated in obese and diabetic mutant mice. *Genes Dev*, 1997, 11: 593-602.
55. Emilsson V, Liu YL, Cawthorne MA, Morton NM, Davenport M: Expression of the functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action of leptin on insulin secretion. *Diabetes*, 1997, 46: 313-316.
56. Fehmman HC, Peiser C, Bode HP, et al: Leptin: a potent inhibitor of insulin secretion. *Peptides*, 1997, 18: 1267-1273.
57. Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL, Friedman JM, Charron MJ: Acute stimulation of glucose metabolism mice by leptin treatment. *Nature*, 1997, 389: 374-377.

58. Shimabukuro M, Koyama K, Chen G, et al: Direct antidiabetic effect of leptin through triglyceride depletion of tissues. *Proced Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 4637-4641.
59. Bai Y, Zhang S, Kim KS, Lee JK, Kim KH: Obese gene expression alters the ability of 30A5 preadipocytes to respond to lipogenic hormones. *J Biol Chem*, 1996, 271: 13939-13942.
60. Frùcbeck G, Aguado M, Martínez JA: In vitro lipolytic effect of leptin on mouse adipocytes. Evidence for a possible autocrine/paracrine role of leptin. *Biochem Biophys Res Comm*, 1997, 240: 590-594.
61. Lostao MP, Urdaneta E, Martínez-Anso E, Barber A, Martínez JA: Presence of leptin receptors in rat small intestine and leptin effect on sugar absorption. *FEBS Lett*, 1998, 423: 302-306.
62. Emond M, Schwartz GJ, Ladenheim EE, Moran TH: Central leptin modulates behavioral and neural responsiveness to CCK. *Am J Physiol*, 1999, 276: R1545-R1549.
63. Ballinger A: Gastric leptin. *Gut*, 1999, 44:153:154.
64. Matson CA, Reid DF, Cannon TA, Ritter RC Cholecystokinin and leptin act synergistically to reduce body weight: *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, 278 : R882-R890.
65. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, et al: Leptin in gastroprotection induced by cholecystokinin or by a meal. Role of vagal and sensory nerves and nitric oxide. *Eur J Pharmacol*, 1999, 374 : 263-276.
66. Auwerx J, Staels B: Leptin. *Lancet*, 1998, 351: 737-742.
67. Rosenbaum M, Leibel R, Hirsch J: Regulation of energy storage, intake and expenditure. *N Engl J Med*, 1997, 337: 396-407.
68. De Vos P, Saladin R, Auwerx J, Staels B: Induction of ob gene expression by corticosteroids is accompanied by body weight loss and reduced food intake. *J Biol Chem*, 1995, 270: 15958-15961.
69. Collins S, Surwit RS: Pharmacologic manipulation of ob expression in a dietary model of obesity. *J Biol Chem*, 1996, 271: 9437-9440.
70. Dagogo-Jack S, Fanelli C, Paramore D, Brothers J, Landt M: Plasma leptin and insulin relationships in obese and nonobese humans. *Diabetes*, 1996, 45: 695-698.
71. Masuzaki H, Ogawa Y, Hosoda K, Kawada T, Fushiki T, Nakao K: Augmented expression of the obese gene in the adipose tissue from rats fed high-fat diet. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 216: 355-358.
72. Tonello C, Dioni L, Briscini L, Nisoli E: SR59230A blocks beta3-adrenoceptor-linked modulation of uncoupling protein-1 and leptin in rat brown adipocytes. *Eur J Pharmacol*, 1998, 3: 125-129.

73. Milagro FI, Gómez-Ambrosi J, Martínez-Ansó E, Martínez JA: Effect of a beta3-adrenergic agonist on liver glucokinase gene expression in alloxan-diabetic rats. *J Physiol Biochem*, 1999, 55: 25-32.
74. Mantzoros CS, Moschos SJ: Leptin: in search of role(s) in human physiology and pathophysiology. *Clin Endocrinol*, 1998, 49: 551-567.
75. Medina EA, Stanhope KL, Mizuno TM, et al: Effects of tumor necrosis factor alpha on leptin secretion and gene expression: relationship to changes of glucose metabolism in isolated adipocytes. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1999, 23: 896-903.
76. Maffei M, Haalas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S, Kern PA, Friedman JM: Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Med*, 1995, 11: 1155-1161.
77. Saad MF, Damani S, Gingerich RL, Riad-Gabriel MG, Khan A, Boyadjian R, Jinagouda SD, El-Tawil K, Rude RK, Kamdar V: Sexual dimorphism in plasma leptin concentration. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 579-584.
78. Haffner SM, Miettinen H, Karhapaa P, Mykkanen L, Laakso M: Leptin concentrations, sex hormones, and cortisol in nondiabetic men. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 1807-1809.
79. Takahashi M, Funahashi T, Miyaoka K, Matsuzawa Y: Plasma leptin levels and body fat distribution. *Horm Metab Res*, 1996, 751-752.
80. Vidal H, Auboeuf D, D Vos P, et al: The expression of ob gene is not acutely regulated by insulin and fasting in human abdominal subcutaneous adipose tissue. *J Clin Invest*, 1996, 98: 251-255.
81. Sinha K, Ohannesian J, Heiman ML, et al: Nocturnal raise of leptin in lean, obese and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest*, 1996, 97: 1344-1347.
82. Kolaczynski JW, Nycze MR, Considine RV, et al: Acute and chronic effect of insulin on leptin production in humans. *Diabetes*, 1996, 45: 609-701.
83. Baskin DG, Figlewicz Lattemann D, et al: Insulin and leptin: dual adiposity signals to the brain for the regulation of food intake and body weight. *Brain Res*, 1999, 848 : 114-123.
84. 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.
85. Kolaczynski JW, Considine RV, Ohannesian C, et al: Acute and chronic effect of insulin on leptin production in humans. *Diabetes*, 1996, 45: 699-701.
86. Wang J, Liu R, Hawkins M, Barzilai N, Rossetti L: A nutrient -sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature*, 1998, 393: 684-688.

87. Remesar X, Rafecas I, Fernández-López JA, Alemany M: Is leptin an insulin counter-regulatory hormone. *FEBS Letters*, 1997, 402: 9-11.
88. 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.
89. 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.
90. Mizuno A, Murakami T, Otani S, Kuwajima M, Shima K: Leptin affects pancreatic endocrine functions through the sympathetic nervous system. *Endocrinology*, 1998, 3863-3870.
91. Cohen B, Novick D, Rubinstein M: Modulation of insulin activities by leptin. *Science*, 1996, 274: 1151-1152.
92. Zhang B, Berger J, Hu E, et al: Negative regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  gene expression contributes to the adipogenic effect of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Mol Endocrinol*, 1996, 10: 1457-1466.
93. Mason MM, He Y, Chen H, Quan MJ, Reitman M: Regulation of leptin promoter function by Sp1, C/EBP, and a novel factor. *Endocrinology*, 1998, 139: 1013-1022.
94. Hauner H, Bender M, Haastert B, Hube F: Plasma concentrations of soluble TNF- $\alpha$  receptors in obese subjects. *Int J Obes*, 1998, 22: 1239-1243.
95. Hotamisligil GS, Arner P, Atkinson RL, Spiegelman BM: Differential regulation of the p80 tumor necrosis factor receptor in human obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 1997, 46: 451-455.
96. Corica F, Allegra A, Corsonello A, et al: Relationship between plasma leptin levels and the tumor necrosis factor- $\alpha$  system in obese subjects. *Int J Obes*, 1999, 23: 355-360.
97. Yamaguchi Y, Murakami T, Tomimatsu T, et al: Autocrine inhibition of leptin production by tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) type-1 receptor in vivo. *Biochem Biophys Res Comm*, 1998, 244: 30-34.
98. Zumbach MS, Boehme MWJ, Whal P, Stremmel W, Ziegler R, Nawroth PP. Tumor necrosis factor increases serum leptin levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 4080-4082.
99. 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: 2777-2778.

100. Fawcett RL, Waetcher AS, Williams LL B, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  inhibits leptin production in subcutaneous and omental adipocytes from morbidly obese humans. *J Clin Endocrin Metab*, 2000, 85: 530-535.
101. Zhang HH, Kumar S, Barnett AM, Eggo MC. Tumor necrosis factor-alpha exerts dual effects on human adipose leptin synthesis and release. *Mol Cell Endocrinol*, 2000, 159: 79-88.



## ANEXO II .

**Papel del factor de necrosis tumoral en el control de las  
reservas grasas y la obesidad**

*Medicina Clínica (Barc) 2000*

## REVISIONES

# Papel del factor de necrosis tumoral en el control de las reservas grasas y la obesidad

M. Bulló Bonet, P. García-Lorda, J.M. Argilés<sup>a</sup> y J. Salas-Salvadó

Unidad de Nutrición Humana. Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de Reus. Universidad Rovira i Virgili.  
<sup>a</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona.

La obesidad es un síndrome metabólico que se asocia a una elevada morbilidad y mortalidad ligada a enfermedades como la arteriosclerosis, la hipertensión arterial, la diabetes, ciertas alteraciones cardiovasculares y determinados tipos de cáncer<sup>1</sup>. Así mismo, es uno de los problemas nutricionales que mayor coste generan en las poblaciones desarrolladas, estimándose que en los EE.UU. el coste directo representa un 5,7% del coste sanitario total<sup>2</sup>.

La prevalencia de este síndrome metabólico ha aumentado de tal manera en los últimos años que se ha considerado la epidemia del siglo XXI. En nuestro país, un estudio reciente de Aranceta et al<sup>3</sup> determinó una prevalencia de obesidad del 13,4% en la población española de edad comprendida entre los 25 y los 60 años, cuando se define obesidad a partir de un índice de masa corporal (IMC) superior a 30 kg/m<sup>2</sup>. La obesidad puede considerarse el resultado de un balance energético o lipídico positivo que conduce a la expansión, en mayor o menor grado, de las reservas grasas del organismo. Las causas que originan estas alteraciones metabólicas son todavía en buena parte desconocidas, aunque en la actualidad puede afirmarse que es un síndrome multifactorial complejo en el que necesariamente deben interactuar factores genéticos y ambientales<sup>4,5</sup>. Algunos estudios demuestran que determinados genotipos pueden explicar parte de la variabilidad que se observa en el IMC y en el porcentaje o la distribución de la grasa corporal<sup>6-8</sup>, aunque la importancia relativa de estos factores genéticos es controvertida. Sin embargo, en los últimos años se han descrito algunos genes implicados en el control del peso corporal, como los que codifican para las proteínas UCP (proteína desacopladora de la fosforilación), los genes de los receptores adrenérgicos beta 3 y beta 2, o el gen de la lipoproteína lipasa (LPL), entre otros<sup>9,10</sup>.

Aunque se desconocen todavía todos los mecanismos implicados en el estricto sistema de regulación del peso corporal, se ha sugerido que muy probablemente existen ciertas sustancias de naturaleza hormonal encargadas de informar al cerebro de la acumulación de grasa en el organismo<sup>11,12</sup>. De este modo, frente a una acumulación excesiva de grasa, estas señales aferentes deberían generar una respuesta consistente en una disminución de la ingesta, así como un aumento del gasto calórico, dirigidos a mantener la homeostasis energética<sup>13-15</sup>. Del estudio más detallado de estas se-

ñales aferentes surgió la teoría lipostática, en la que el tejido adiposo adquiere un papel más activo como posible órgano endocrino. Diferentes estudios han demostrado que el tejido graso sintetiza, en cantidades proporcionales a su masa, diferentes sustancias que podrían ejercer un efecto importante sobre el metabolismo energético. Dentro de esta teoría lipostática, se incluyen actualmente dos proteínas sintetizadas en el tejido adiposo que podrían actuar como posibles adipostatos: la leptina y el factor de necrosis tumoral (TNF $\alpha$ ). La leptina fue identificada por Zhang et al en 1994 en una cepa de ratones genéticamente obesos (*ob/ob*)<sup>16</sup>. Desde entonces se han publicado un gran número de trabajos científicos, así como diversas revisiones, sobre esta proteína y sus posibles efectos en la regulación ponderal en el hombre, e incluso se han llegado a identificar dos mutaciones genéticas ligadas a la obesidad en humanos<sup>17,18</sup>. No obstante, la implicación del TNF $\alpha$  en la etiopatogenia de la obesidad humana es menos conocida, y los resultados de los estudios realizados no son concluyentes. Por este motivo, consideramos necesaria una revisión al respecto.

### Factor de necrosis tumoral

El TNF $\alpha$  fue identificado por Old en 1985, en el suero de conejos tratados con endotoxina bacteriana como una sustancia responsable de la necrosis hemorrágica del tumor<sup>19</sup>. Estudios posteriores le atribuyeron también otras funciones moduladoras de la respuesta inmunitaria. Así, se ha considerado el TNF $\alpha$  como la citocina inductora de la respuesta inflamatoria, provocando algunas alteraciones endoteliales (p. ej., el aumento de la expresión de moléculas de adhesión) que contribuyen a la acumulación de leucocitos en lugares de inflamación. Esta proteína estimula también la producción de otras citocinas proinflamatorias, como la IL-1, la IL-6 o el INF $\gamma$ .

El TNF $\alpha$  pertenece a una familia de citocinas globalmente conocidas como factores de necrosis tumoral. Esta familia incluye también otras dos proteínas estructural y funcionalmente parecidas: la linfotóxina  $\alpha$  (conocida como TNF $\beta$ ) y la linfotóxina  $\beta$ <sup>20</sup>. Una de las principales diferencias entre ellas son los tipos celulares que las sintetizan. Así, mientras que la principal célula productora de TNF $\alpha$  es el fagocito mononuclear activado por antígeno (si bien también pueden sintetizarlo los linfocitos T, las células NK y los mastocitos), la producción de linfotoxinas es obra de los linfocitos T<sup>21,22</sup>. Estudios más recientes han demostrado la expresión y síntesis de TNF $\alpha$  en células extrínsecas, como el adipocito<sup>23</sup> y las células del músculo esquelético o cardíaco<sup>24</sup>.

El TNF $\alpha$  es una proteína transmembrana no glucosilada de 26 kDa, siendo característica su posición en la membrana, puesto que el extremo aminoterminal es citoplasmático. Un posterior efecto proteolítico<sup>25</sup>, mediado por una actividad serinoproteasa, libera un fragmento de 17 kDa a la circulación, donde se une a otros fragmentos homólogos formando un homotrímero estable de 51 kDa, que es la forma biológica-

Trabajo parcialmente financiado por el Fondo de Investigación Sanitaria (FIS), Ministerio de Sanidad y Consumo.  
M. Bulló está becada por el Comissionat per a Universitats i Recerca de la Generalitat de Catalunya.  
Correspondencia: Prof. J. Salas-Salvadó.

Unidad de Nutrición Humana. Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de Reus. Universidad Rovira i Virgili,  
Sant Llorenç, 21. 43201 Reus. Tarragona.  
Correo electrónico: jss@fmc.s.urv.es

Recibido el 23-11-1999; aceptado para su publicación el 16-2-2000.

*Med Clin (Barc)* 2000; 114: 624-630

mente activa del TNF $\alpha$ <sup>22,26</sup>. Esta conformación en forma de trímeros permite una mejor unión con los receptores, lo que favorece una acción biológica más eficaz. Sin embargo, estas acciones biológicas serán diferentes en función de la concentración de esta citocina. Debido a la elevada afinidad que los receptores de citocinas presentan para sus ligandos, a bajas concentraciones éstas actúan como un regulador autocrino o paracrino sobre las propias células que las sintetizan. Cuando el estímulo provoca una mayor producción de citocinas, éstas pueden entrar en el torrente sanguíneo y actuar de forma endocrina sobre diferentes órganos diana<sup>26</sup>.

### Receptores del factor de necrosis tumoral

La respuesta biológica del TNF $\alpha$  está mediada por receptores celulares específicos. Estos receptores son glucoproteínas de membrana de estructura dimerica que se localizan en prácticamente la totalidad de las células del organismo. Diferentes ensayos de unión ligando-receptor caracterizaron dos tipos de proteínas de membrana, de diferente peso molecular, capaces de unirse al TNF $\alpha$ . Así, se identificó en ratones el TNFRI o p55 (denominado así porque presenta un peso molecular de 55 kDa) y el subtipo TNFRII o p75. Posteriormente se caracterizaron estos receptores en humanos, que se denominaron p60 y p80, respectivamente, puesto que, si bien presentan un elevado grado de homología con las formas murinas, su peso molecular es ligeramente superior<sup>27-30</sup>.

Los receptores de TNF $\alpha$  presentan una estructura típica de proteínas transmembrana caracterizada por una región extracelular, una región transmembrana y una región citoplasmática. La primera, formada por 4 dominios ricos en residuos cisteína, mantiene una elevada homología entre ambos receptores<sup>31</sup>; sin embargo, existen diferencias importantes de afinidad para el ligando, siendo mayor para el receptor de tipo II. Esta región extracelular presenta también cierta afinidad para otras citocinas y factores de crecimiento, como las linfoquinas, el TGF $\beta$ , el IFN $\alpha$  y el IFN $\beta$  o la IL-1, y confiere a los receptores del TNF $\alpha$  un elevado pleiotropismo.

Si bien no se conocen con exactitud las diversas funciones biológicas de ambos tipos de receptores, diferentes estudios han atribuido la transducción de las señales de citotoxicidad y proinflamación al receptor TNFRI<sup>21,22,32,33</sup>, mientras que el receptor TNFRII, dado que presenta una mayor afinidad por el ligando, podría ejercer un efecto modulador de la respuesta generada por el primero<sup>34</sup>. Para conseguir el efecto biológico, parece imprescindible la cooperación entre ambos tipos de receptores. Este mecanismo se observó en un estudio realizado por Thoma et al<sup>33</sup> sobre cultivos de preadipocitos en los que las señales generadas por el receptor TNFRII tras la estimulación con TNF $\alpha$  no eran suficientes para la obtención de una respuesta sin la presencia del receptor TNFRI.

Las diferencias funcionales que presentan ambos tipos de receptores, así como las observadas en la proporción y en la distribución tisular, que se acentúan en determinadas situaciones como la obesidad, en la que se ha descrito una sobreexpresión adipocitaria del receptor de tipo I<sup>35</sup>, o en células mononucleares de pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en las que se observa una sobreexpresión de ambos tipos de receptores<sup>36</sup>, sugieren que estos receptores pueden contribuir también de manera importante en las distintas alteraciones metabólicas que se observan en estas enfermedades<sup>35,37</sup>.

Las citocinas circulan en plasma unidas a proteínas específicas que pueden alterar su aclaramiento o actividad biológica. Para el TNF $\alpha$ , se han identificado dos formas solubles

del receptor que se generan a partir de la proteólisis de las regiones extracelulares del TNFRI y del TNFRII. Estas proteínas o receptores solubles presentan mayor afinidad para el ligando que sus homólogos de membrana. De este modo, se establece una competencia por el ligando que modularía la acción del TNF $\alpha$ , puesto que al ser fijado por las formas solubles no sería accesible a los receptores de membrana. Sin embargo, se ha indicado que la activación de los receptores solubles también podría generar alguna respuesta celular específica<sup>32</sup>, o bien estabilizar el trímero de TNF $\alpha$  y, por tanto, potenciar su acción celular.

Las concentraciones de receptores solubles en plasma oscilan entre 0,5 y 3  $\mu\text{g/l}$ <sup>38</sup> en individuos sanos; sin embargo, estos valores aumentan considerablemente en estados de inflamación<sup>39</sup>, infección por el VIH y en pacientes que sufren procesos tumorales<sup>40</sup>. Estudios recientes han descrito también un incremento de los valores plasmáticos de estas sustancias en pacientes con obesidad, relacionándose positivamente con el IMC, el porcentaje de masa grasa, la distribución de la grasa corporal, la masa libre de grasa<sup>41,42</sup> o la sensibilidad a la insulina<sup>43,44</sup>, lo que indica, por tanto, que estos receptores solubles pueden tener un papel importante en la fisiología de la obesidad modulando las acciones del TNF.

### Efectos del factor de necrosis tumoral circulante sobre el metabolismo

Además del efecto inmunomodulador y citotóxico del TNF $\alpha$ , diversos estudios han observado que, al menos en modelos animales, el TNF $\alpha$  circulante ejerce algunas funciones sobre el sistema nervioso central y, a nivel periférico, sobre los tejidos adiposo, muscular y hepático, regulando el metabolismo intermedio y el balance calórico.

Varios estudios realizados en animales han observado que la infusión de TNF $\alpha$  provoca una pérdida ponderal, apreciándose en algunos casos una disminución de la ingesta<sup>45,46</sup> y, en otros, un aumento de la termogénesis<sup>47-49</sup>. Puesto que el TNF $\alpha$  plasmático puede modificar la ingesta y el gasto calórico; y debido a que el centro regulador del hambre y la saciedad se encuentra en el hipotálamo, se ha sugerido que, con toda probabilidad, el TNF $\alpha$  podría actuar directamente sobre este órgano, o bien de manera indirecta modulando la síntesis de otras sustancias, como la leptina, que actuarían en él<sup>50</sup>. De hecho, diferentes estudios en animales y humanos han detectado la expresión de receptores funcionales del TNF $\alpha$  en el hipotálamo<sup>51</sup> que pueden ser estimulados mediante la administración intraventricular de esta citocina<sup>52</sup>.

En los adipocitos se han descrito diversos efectos metabólicos del TNF $\alpha$ . Por un lado, se ha observado tanto *in vitro* como sobre el animal que el TNF $\alpha$  es capaz de inhibir la actividad y la expresión de la LPL en el adipocito<sup>53-56</sup>. Por otro, se ha apreciado un aumento de la tasa de lipólisis tras la incubación de adipocitos con esta citocina, sin que ello modifique la expresión de la enzima limitante de esta vía metabólica. Ello sugiere que el TNF $\alpha$  interviene en la regulación de la lipólisis actuando sobre algún mecanismo posterior a la síntesis de la lipasa sensible a hormonas (LSH)<sup>57</sup>. El hecho de que se observe una disminución en la concentración de las subunidades alfa de la proteína G asociada al receptor de TNF $\alpha$ <sup>58</sup> podría explicar este efecto. Finalmente, se ha observado la inhibición por el TNF $\alpha$  de algunas enzimas implicadas en la síntesis de ácidos grasos como la sintasa de los ácidos grasos (FAS)<sup>59</sup>, glicerol-fosfato-deshidrogenasa (GPDH) y las proteínas de unión a los ácidos grasos (FABP)<sup>60</sup>.

El incremento de las concentraciones de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) que se observa en plasma de animales estimulados con TNF $\alpha$ <sup>61-63</sup> no puede explicarse únicamente a través de la acción de esta citocina sobre la lipólisis del tejido adiposo. Diferentes estudios han demostrado que el TNF $\alpha$  estimula también la lipogénesis hepática<sup>53-55,62,64</sup>. De este modo, muy probablemente la hipertrigliceridemia que se observa en ciertos pacientes infectados por el VIH o con enfermedades neoplásicas podría deberse a los valores anormalmente elevados de TNF $\alpha$  y/u otras citocinas que se encuentran en el plasma de estos individuos<sup>63,65</sup>.

El TNF $\alpha$  plasmático, al igual que otras citocinas como la IL-1 y el IFN $\gamma$ , tiene también un papel importante en la homeostasis de la glucosa. Se ha indicado que el efecto del TNF $\alpha$  sobre el metabolismo de la glucosa podría estar mediado por una acción directa sobre los transportadores específicos de la glucosa o por una acción indirecta de esta citocina sobre los receptores de la insulina. De hecho, en ratas a las que se administró por vía parenteral y de forma crónica TNF $\alpha$ , se advirtió que esta proteína era capaz de inducir una resistencia periférica a la insulina<sup>66</sup>. Algunos autores han observado la inhibición de la expresión del transportador GLUT4 y del contenido intracelular del GLUT1 en cultivos de adipocitos animales incubados con TNF $\alpha$ <sup>67,68</sup>. Otros estudios han descrito que la administración de TNF $\alpha$  en adipocitos y células musculares inhibe la expresión y la actividad de los receptores de insulina provocando una disminución de la captación de glucosa<sup>69,70</sup>.

La unión de la insulina a su receptor de membrana<sup>71</sup> genera la autofosforilación de la unidad beta del propio receptor (IR) en múltiples residuos tirosina. Este efecto origina una cascada de fosforilaciones de algunos sustratos intracelulares como el IRS-1<sup>72,73</sup>, que puede considerarse el principal mediador intracelular de la señal generada por la insulina<sup>74,75</sup>. Diversas evidencias apoyan que el TNF puede desempeñar un papel importante en esta situación. Por un lado, tras la incubación de adipocitos de ratones con TNF $\alpha$  se observa una inhibición dependiente de la dosis de la autofosforilación del receptor insulínico (IR)<sup>76,77</sup> y de la fosforilación en residuos tirosina del sustrato IRS-1<sup>76,78</sup>. Este efecto se asocia a la disminución del consumo de glucosa celular mediado por la insulina. Estos efectos se han observado también en células hepáticas, musculares y fibroblastos<sup>76,79</sup>. Por otra parte, en ratas *fa/fa* (obesas y diabéticas) la neutralización de esta citocina con la administración de anticuerpos anti-TNF $\alpha$  provoca la recuperación de la actividad del receptor insulínico tanto en el músculo como en el tejido adiposo, sin que puedan apreciarse variaciones significativas de la actividad de los receptores hepáticos. El hecho de que esta mejora de la sensibilidad a la insulina se produzca tan sólo en aquellos tejidos que sobreexpresan esta citocina sugiere que, muy probablemente, el TNF $\alpha$  actúa de forma autocrina o paracrina sobre el mismo tejido. Este mecanismo podría explicar en parte la resistencia a la insulina observada en pacientes afectados por procesos infecciosos, estrés u otras enfermedades que se acompañan de valores plasmáticos aumentados de TNF $\alpha$ .

Si bien la implicación del TNF $\alpha$  en el metabolismo ha sido ampliamente documentada en modelos animales como *in vitro*, su significación biológica en el ser humano es todavía poco conocida<sup>80</sup>. Esto se debe no sólo a la complejidad de los mecanismos involucrados, sino también a la dificultad metodológica asociada al estudio del TNF $\alpha$ . La detección de los valores plasmáticos de TNF $\alpha$  en humanos es sumamente difícil; de hecho en la bibliografía existe una enorme discrepancia en los resultados de estas valoraciones, y con

frecuencia las concentraciones circulantes de esta citocina son indetectables. Estas dificultades se atribuyen básicamente a mecanismos de competencia de las formas solubles de los receptores y al alto grado de lability que esta citocina presenta durante el procesamiento y manipulación de las muestras<sup>81-83</sup>.

#### El factor de necrosis tumoral como inductor de la resistencia a la insulina en humanos

Las evidencias experimentales comentadas en el apartado anterior indican que el TNF $\alpha$ , adipocitario o muscular, puede desempeñar un papel clave en la inducción de la resistencia a la insulina. Varios estudios apoyan esta hipótesis también en humanos. Por un lado, se ha observado un incremento de la expresión de esta citocina tanto en el tejido adiposo como en el muscular de pacientes que presentan diabetes mellitus (DM) tipo 2<sup>23,24</sup>. Por otra parte, diversas investigaciones realizadas sobre humanos han apreciado la existencia de una importante relación entre la expresión tisular o los valores plasmáticos de TNF $\alpha$  y diferentes índices que evalúan de forma indirecta la resistencia insulínica<sup>84,85</sup>. Se han apuntado dos posibles mecanismos mediados directamente por el TNF $\alpha$ : la disminución del número de transportadores específicos de glucosa y la inhibición de la actividad del receptor de la insulina.

Estudios realizados *in vitro* con adipocitos humanos demuestran que existe una disminución de la captación de glucosa en los pacientes obesos respecto a los controles y que esta inhibición es todavía mayor en aquellos que presentan DM tipo 2<sup>86</sup>. Estas diferencias observadas en la captación de glucosa se han atribuido a una reducción de la síntesis y expresión de los GLUT4<sup>70,87</sup>. Estos resultados indican que, muy probablemente, este efecto podría contribuir a la resistencia a la insulina que con frecuencia se advierte en este tipo de pacientes y que actúa oponiéndose a la expansión de la grasa corporal<sup>69,87,88</sup>. Contrariamente, en células musculares humanas se ha apreciado un incremento del número de transportadores GLUT1 tras la estimulación con TNF, sin que se altere la expresión del transportador GLUT4<sup>89</sup>; probablemente éste sea un mecanismo dirigido a compensar el incremento de las concentraciones plasmáticas de glucosa debidas a la inhibición de su captación por el adipocito<sup>90</sup>.

Si bien se sabe que los pacientes con resistencia a la insulina o DM tipo 2 presentan una disminución del número de transportadores de glucosa en el tejido adiposo y muscular<sup>67,69,70,86,87</sup>, ciertos autores sugieren que este mecanismo no es suficiente para explicar la magnitud de la alteración de la respuesta insulínica observada en estos pacientes<sup>78</sup>, siendo necesaria también la alteración de la actividad catalítica del propio receptor hormonal para que se desarrolle la resistencia a la insulina<sup>72,91</sup>, como sucede en el modelo animal. En diversos estudios se ha advertido una notable relación negativa entre los valores circulantes de TNF y la resistencia a la insulina, a pesar de que no existen por ahora estudios realizados en humanos que permitan dilucidar los mecanismos moleculares de acción de esta citocina sobre el receptor de la insulina.

Contrariamente a lo que se ha observado en animales, tras la administración de anticuerpo anti-TNF $\alpha$  a pacientes con obesidad y DM tipo 2, Ofei et al<sup>92</sup> no apreciaron ninguna mejora significativa de la sensibilidad a la insulina o del control glucémico. Así pues, la posibilidad terapéutica de la neutralización o inhibición del TNF $\alpha$  sobre la resistencia a la insulina propuesta anteriormente por algunos autores<sup>71</sup> queda en entredicho tras la realización de este estudio.

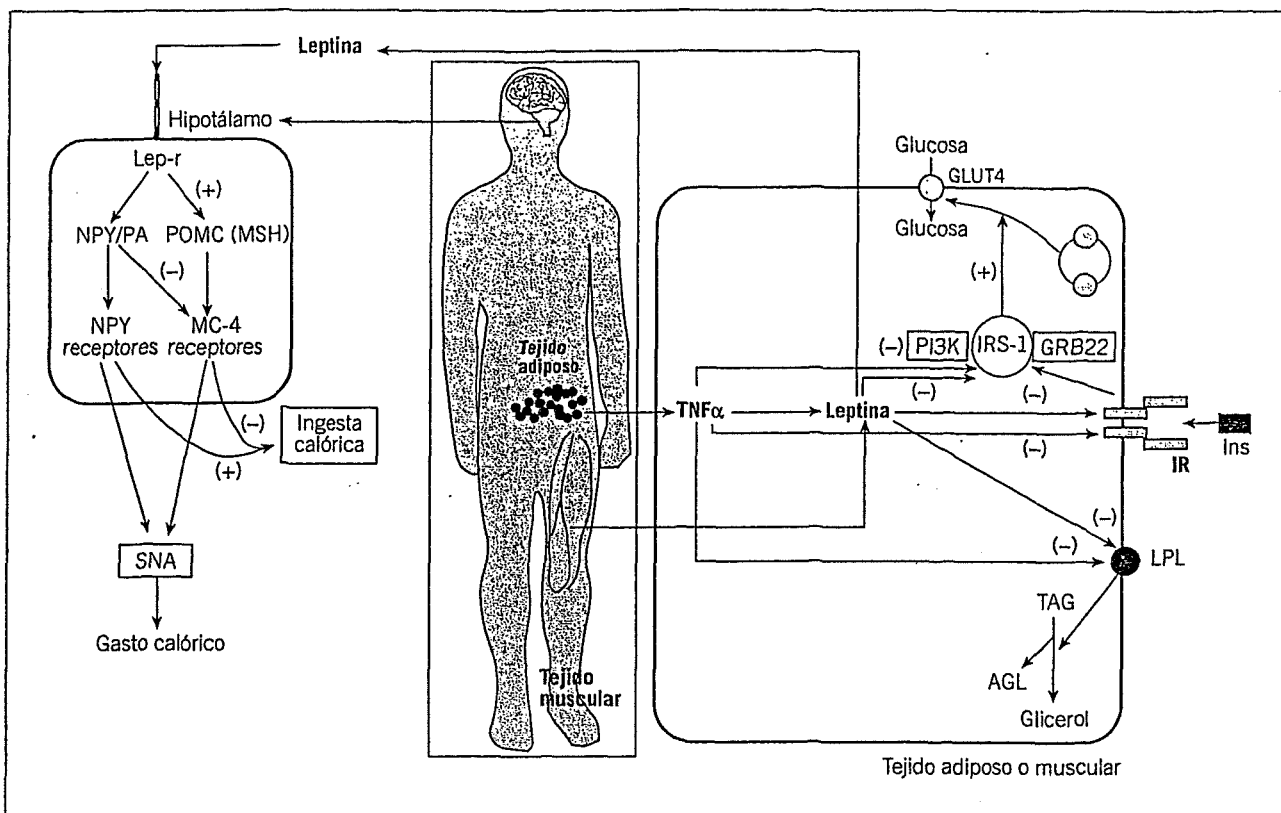


Fig. 1. Efectos del factor de necrosis tumoral (TNF $\alpha$ ) sobre el metabolismo energético y lipídico. IR: receptor de la insulina; LPL: lipoproteína lipasa; TAG: triacilglicerol; AGL: ácidos grasos libres; Lep-r: receptor de la leptina; NPY/PA: neuropeptido Y/proteína agouti; POMC (MSH): proopiomelanocortina/hormona estimulante del  $\alpha$ -melanocito; MC-4: melanocortina-4; SNA: sistema nervioso autónomo.

### Papel del factor de necrosis tumoral en el control de las reservas grasas

Los ratones modificados genéticamente de modo que no expresen TNF $\alpha$  presentan un menor incremento ponderal respecto a los utilizados como control<sup>93</sup>. Ésta es la evidencia más importante que existe para implicar a esta citocina en el desarrollo y mantenimiento de la obesidad en el animal.

A pesar de que los resultados recogidos en la bibliografía son todavía poco concluyentes en relación con los mecanismos biológicos y moleculares mediante los cuales el TNF $\alpha$  participa en esta regulación ponderal, se señalan tres mecanismos principales a través de los cuales se vehicula este efecto regulador: la resistencia a la insulina, la inhibición de la expresión y la actividad de la LPL, y la modulación de los valores de leptina (fig. 1).

### Factor de necrosis tumoral, resistencia a la insulina<sup>94</sup> y obesidad

La resistencia a la insulina, tan frecuentemente asociada a la obesidad, parece ser un mecanismo de defensa clave frente a la expansión de las reservas grasas. En todos los modelos animales de obesidad asociada a resistencia a la insulina, se ha observado una sobreexpresión de esta citocina, sin que ello se acompañe de una alteración en la expresión de otras citocinas como el TNF $\beta$ , IL-1, IFN $\gamma$ . En 1993 Hotainisligii et al<sup>94</sup> describieron que los adipocitos de ratones db/db (con obesidad y diabetes) eran capaces de producir cantidades considerables de ARNm TNF $\alpha$ . Esta síntesis de TNF $\alpha$  fue superior tanto en adipocitos como en células musculares de animales que presentaban obesidad o diabetes respecto a sus controles.

En pacientes con obesidad, Kern et al<sup>23</sup> observaron una relación significativa entre la expresión adipocitaria de TNF $\alpha$  y el IMC o el porcentaje de masa grasa. Sin embargo, estas relaciones no existían o desaparecían en aquellos pacientes que presentaban un IMC superior a 45 kg/m<sup>2</sup>. Esto subraya, una vez más, que la obesidad humana es un síndrome con expresiones fenotípicas heterogéneas que, muy probablemente, pueden ser el resultado de factores causales distintos y, en consecuencia, estar sujetos a mecanismos moduladores no idénticos<sup>95</sup>, y podría explicar la elevada variabilidad en los resultados e incluso la existencia de cierta confusión cuando se estudian poblaciones heterogéneas de individuos obesos no bien tipificadas.

A pesar de que no existen en la bibliografía estudios longitudinales en humanos que permitan establecer el papel del TNF $\alpha$  como predictor del incremento ponderal, recientemente Paolisso et al<sup>96</sup> han apreciado una notable asociación negativa entre los valores plasmáticos de TNF $\alpha$  y la captación de glucosa mediada por la insulina en un grupo de pacientes estudiados durante 12 meses, de lo que han concluido que las concentraciones de TNF $\alpha$  predicen el deterioro de la acción de la insulina con la edad. Los resultados obtenidos por estos investigadores recalcan la importancia de efectuar más estudios longitudinales en humanos que puedan delimitar la trascendencia biológica del TNF $\alpha$  en el control ponderal y su papel en la obesidad humana.

### Factor de necrosis tumoral, actividad LPL adipocitaria y obesidad

Algunos estudios han observado que la sobreexpresión del TNF $\alpha$  en el tejido adiposo y muscular de pacientes que pre-

sentan obesidad y/o diabetes no se corresponde con un aumento plasmático de esta citocina. Por ello, se ha indicado que esta proteína ejerce solamente una acción local sobre el propio tejido que la sintetiza, bien sea de forma directa o indirectamente a través de la inducción de otras sustancias inhibitorias de la actividad LPL adipocitaria.

En los pacientes que presentan un incremento de la expansión del tejido adiposo, se ha apreciado una menor expresión y síntesis de la LPL adipocitaria<sup>22</sup>, lo que contribuye a una disminución de la cantidad de ácidos grasos disponibles para la posterior esterificación y acumulación en este tejido. Muy probablemente esta disminución de la actividad de la LPL podría considerarse un mecanismo de defensa del organismo para frenar el incremento ponderal. De hecho, se ha observado un aumento de la actividad de la LPL durante la pérdida de peso de pacientes que presentan obesidad<sup>97</sup>. El incremento de la tasa de lipólisis<sup>98</sup> que se ha detectado en pacientes con obesidad y que provoca la movilización de las reservas grasas, junto con, muy probablemente, una mayor oxidación de estos sustratos energéticos por los tejidos periféricos, podría considerarse también un mecanismo que se opone a la expansión de las reservas grasas corporales.

#### *Relación entre el factor de necrosis tumoral y la leptina*

Varios estudios apoyan la hipótesis de que los valores de leptina pueden estar modulados por la producción de TNF $\alpha$ . Por un lado, se ha observado que tras la administración de TNF a pacientes con tumores sólidos se produce un incremento de las concentraciones plasmáticas de leptina<sup>99</sup>, sin que se hayan identificado hasta el momento los mecanismos moleculares causantes de dicho efecto. Por otra parte, estudios realizados *in vitro* sobre adipocitos incubados con TNF $\alpha$  demuestran también un importante efecto sobre la regulación de la leptina. Sin embargo, la bibliografía ofrece resultados contradictorios al respecto, ya que, mientras algunos autores han observado que la administración aguda de TNF $\alpha$  provoca una notable estimulación de la expresión y la secreción de leptina al cabo de pocas horas<sup>100</sup>, otros no han apreciado este efecto a corto plazo, sino una importante inhibición de la producción de esta sustancia a partir de las 48 h<sup>101,102</sup>. Sea cual sea la situación que más se ajuste a lo que ocurre *in vivo*, hemos de reconocer que la producción adipocitaria de leptina está regulada por el TNF $\alpha$ . De hecho, la significativa relación que se observa entre los valores plasmáticos de leptina y de receptores solubles de TNF $\alpha$  en pacientes que presentan obesidad apoyan dicha hipótesis<sup>41</sup>.

Considerándose, pues, la sobreexpresión de TNF $\alpha$  como un posible mecanismo biológico de defensa para frenar la expansión indefinida de las reservas grasas del organismo, quedan todavía por esclarecer los factores que inducen este incremento de su expresión en los pacientes obesos. Se ha sugerido que el incremento del tamaño celular debido a la acumulación de grasas podría actuar como inductor de la regulación génica del TNF $\alpha$ , al menos en el adipocito<sup>103</sup>. También ciertas sustancias hormonales cuyos valores se encuentran elevados en el plasma de pacientes obesos, como la insulina, el IGF-1, los glucocorticoides, o bien el incremento de productos glucosilados séricos<sup>104</sup> se han apuntado como posibles moduladores de esta expresión. Es posible que las cifras de expresión adipocitaria de TNF $\alpha$  sean susceptibles de ser moduladas a través de la dieta en función de la proporción de calorías aportadas en forma de grasa. Morin et al<sup>105</sup> observaron que las ratas Wistar que recibieron dietas isoenergéticas con una mayor proporción de

calorías lipídicas (el 45 respecto al 12%) presentaban una mayor expresión de esta proteína en los adipocitos. La importancia del contenido en grasas de una dieta sobre el desarrollo y mantenimiento de la obesidad en humanos había sido descrita anteriormente en 1993, por Westerterp<sup>106</sup>, quien encontró una relación directa entre el porcentaje de energía ingerida en forma de grasas y la incidencia de obesidad.

Los diseños y tipo de estudios realizados hasta el momento que intentan implicar alguna sustancia o mecanismo en el desarrollo de la obesidad presentan grandes inconvenientes. Existe un número considerable de estudios realizados *in vitro* que tratan de describir la regulación y acción del TNF $\alpha$  en las células. Sin embargo, resulta difícil, si no imposible, extrapolar los resultados obtenidos con esta clase de estudios al animal o ser humano en vida. Por otro lado, los estudios *in vivo* que comparan obesos y controles (tanto en animales como en humanos) no permiten demostrar relaciones de causalidad. Para entender la implicación del TNF $\alpha$  en el desarrollo de la obesidad o sus complicaciones metabólicas, es necesario llevar a cabo estudios con un diseño longitudinal como hicieron hace unos años Ravussin et al<sup>107</sup>. Estos autores investigaron diferentes factores metabólicos en una población de indios Pima que fueron seguidos durante un período de diez años. Los individuos que presentaban al inicio del estudio un menor gasto energético ajustado, un mayor cociente respiratorio (reflejo de una menor oxidación lipídica) o una menor sensibilidad a la insulina experimentaron un mayor incremento ponderal en los años de seguimiento, por lo que pudo considerarse a estos factores como predictores de la ganancia ponderal<sup>13,108-110</sup>. El hecho de que el TNF $\alpha$  pueda intervenir y modular, ya sea de forma directa o indirecta, los tres mecanismos anteriormente citados confiere una especial relevancia al estudio de esta citocina en el conocimiento de la fisiopatología de la obesidad en humanos.

Los resultados obtenidos en estos estudios subrayan la importancia de realizar estudios longitudinales en humanos que puedan delimitar la trascendencia biológica del TNF $\alpha$  en el control ponderal y su papel en la obesidad humana. Así mismo, dada la heterogeneidad tanto fenotípica como de respuesta clínica que puede observarse en la población obesa, es preciso establecer unos criterios de caracterización que respondan a las diferencias tanto de magnitud como de distribución de la grasa corporal, así como de las diversas alteraciones metabólicas comúnmente asociadas a esta enfermedad, especialmente la presencia de resistencia a la insulina.

En cualquier caso, todavía estamos lejos de poder establecer una utilidad práctica de la manipulación farmacológica del TNF $\alpha$  en el tratamiento de la obesidad. Existen diversos estudios realizados sobre modelos de caquexia animal en los que la administración de inhibidores de esta citocina produce, al menos parcialmente, la reversión del proceso y de alguna de las alteraciones metabólicas asociadas. En humanos, se ha intentado igualmente la inhibición terapéutica del TNF $\alpha$  en pacientes con caquexia asociada al sida o a procesos tumorales con el fin de mejorar su estado nutricional. Sin embargo, los resultados hasta el momento son poco concluyentes y, mientras que algunos estudios demuestran una significativa mejora ponderal, otros no detectan efecto alguno e incluso señalan algunos efectos adversos sobre el estado inmunológico de estos pacientes. No existen en la actualidad estudios en pacientes diabéticos a quienes se administre un inhibidor de los efectos del TNF $\alpha$  como tratamiento clínico para la mejora de la resistencia a la insulina. La complejidad de la red de citocinas en la que se halla in-

merso el TNF $\alpha$ , el efecto pleiotrópico de esta proteína y su acción fundamentalmente autocrina o paracrina son factores que dificultan su uso sistémico en el tratamiento de las alteraciones del peso corporal.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pi Sunyer FX. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. The evidence report. *Obes Res* 1998; 6 (Supl 2): 51-209.
2. Wolf AM, Colditz GA. Current estimates of the economic cost of obesity in the United States. *Obes Res* 1998; 6: 97-106.
3. Aranceta J, Pérez Rodrigo C, Serra Majem L, Ribas L, Quiles Izquierdo J, Vioque J et al. Prevalence of obesity in Spain: the SEEDO'97 study. Spanish Collaborative Group for the Study of Obesity. *Med Clin (Barc)* 1998; 111: 441-445.
4. Perusse L, Bouchard C. Genotype-environment interaction in human obesity. *Nut Rev* 1999; 57: S31-S37.
5. Bray G, Bouchard C. Genetics of human obesity: research directions. *FASEB J* 1997; 11: 937-945.
6. Bouchard C, Perusse L, Leblanc C, Tremblay A, Thériault G. Inheritance of the amount and distribution of human body fat. *Int J Obes* 1988; 12: 205-215.
7. Bouchard C. Genetic determinants of regional fat distribution. *Hum Repr* 1997; 12: 1-5.
8. Borecki IB, Blangero J, Rice T, Perusse L, Bouchard C, Rao DC. Evidence for at least two major loci influencing human fatness. *Am J Hum Gen* 1998; 63: 831-838.
9. Perusse L, Chagnon YC, Weisnagel J, Bouchard C. The human obesity gene map: the 1998 update. *Obes Res* 1999; 7: 111-129.
10. Comuzzie AG, Allison DB. The search for human obesity genes. *Science* 1998; 280: 1374-1377.
11. Ravussin E, Swinburn BA. Pathophysiology of obesity. *Lancet* 1992; 15: 32-42.
12. Rosenbaum M, Leibel R, Hirsch J. Obesity. *N Engl J Med* 1997; 337: 396-407.
13. Rohner-Jeanrenaud A. A neuroendocrine reappraisal of the dual-center hypothesis: its implications for obesity and insulin resistance. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; 19: 517-534.
14. Schwartz MW, Figlewicz DP, Baskin DG, Woods SC, Porte D. Insulin in the brain: a hormonal regulator of energy balance. *Endocr Rev* 1992; 13: 387-414.
15. Morley JE. Neuropeptide regulation of appetite and weight. *Endocr Rev* 1987; 256-287.
16. 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: 425-431.
17. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387: 903-908.
18. Strobel A, Issat T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nature Genetics* 1998; 18: 213-215.
19. Old LJ. Tumor necrosis factor (TNF). *Science* 1985; 230: 630-632.
20. Browning JL, Ngam-ek A, Lawton P, DeMarinis J, Tizard R, Chow EP et al. Lymphotoxin beta, a novel member of the TNF family that forms a heterotrimeric complex with lymphotoxin on the cell surface. *Cell* 1993; 72: 847-856.
21. Flier JF, Underhill LH. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1996; 334: 1717-1725.
22. Vilcek J, Lee TH. Tumor necrosis factor: new insights into the molecular mechanisms of its multiple actions. *J Biol Chem* 1991; 266: 7313-7316.
23. 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.
24. Saghizadeh M, Ong JM, Garvey WT, Henry RR, Kern PA. The expression of TNF $\alpha$  by human muscle: relationship to insulin resistance. *J Clin Invest* 1996; 97(4): 1111-1116.
25. Kriegler M, Pérez C, DeFay K, Albert I, Lu SD. A novel form of TNF/cachectin is a surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell* 1988; 53: 45-53.
26. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cytokines. En: Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editors. *Cellular and molecular immunology*. Filadelfia: Saunders, 1995; 267-292.
27. Loetscher H, Pan YCE, Lahm HW, Gentz R, Brockhaus M, Tabuchi H et al. Molecular cloning and expression of the human 55 kD tumor necrosis factor receptor. *Cell* 1990; 61: 351-359.
28. Fuchs C, Strehl S, Dworzak M, Himmler A, Ambros PF. Structure of the human TNF receptor 1 (p60) gene (TNFR1) and localization to chromosome 12p13. *Genomics* 1992; 13: 219-224.
29. Schall TJ, Lewis M, Koller KJ, Lee A, Rice GC, Wong GH et al. Molecular cloning and expression of a receptor for human tumor necrosis factor. *Cell* 1990; 61: 361-370.
30. Smith CA, Davis T, Anderson D, Solam L, Beckmann MP, Jerzy R et al. A receptor for tumor necrosis factor defines an usual family of cellular and viral proteins. *Science* 1990; 248: 1019-1023.
31. Dembic Z, Loetscher H, Gubler U, Pan YCE, Lahm HW, Gentz R et al. Two human TNF receptors have similar extracellular, but distinct intracellular, domain sequences. *Cytokine* 1990; 2: 231-237.
32. Smith CA, Farrah T, Goodwin RG. The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation and death. *Cell* 1994; 76: 959-962.
33. Thoma B, Grell M, Pfizenmaier K, Scheurich P. Identification of a 60 kD tumor necrosis factor (TNF) receptor as the major signal transducing component in TNF $\alpha$  responses. *J Exp Med* 1990; 172: 1019-1023.
34. Peschon JJ, Torrance DS, Stocking KL, Giaccum MB, Otten C, Willis CR et al. TNF receptor-deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation. *J Immunol* 1998; 160: 943-952.
35. Hotamisligil GS, Amer P, Atkinson RL, Spiegelman BM. Differential regulation of the p80 tumor necrosis factor receptor in human obesity and insulin resistance. *Diabetes* 1997; 46: 451-455.
36. Kalinkovich A, Gelezianus R, Kemper O, Belenki D, Wallach D, Wainberg MA et al. Increased soluble tumor necrosis factor receptor expression and release by human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Interferon Cytokine Res* 1995; 15: 749-757.
37. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1996; 34: 17-25.
38. Moreau E, Philippe J, Couvent S, Leroux-Roels G. Interference of soluble TNF- $\alpha$  receptors in immunological detection of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Endocrinol Metab* 1996; 42: 1450-1453.
39. Spinass GA, Keller U, Brockhaus M. Release of soluble receptors for tumor necrosis factor (TNF) in relation to circulating TNF during experimental endotoxemia. *J Clin Invest* 1992; 90: 533-536.
40. Godfried MH, Romijn JA, Van der Poel T, Weverling GJ, Corssmit EP, Ender E et al. Soluble receptors for tumor necrosis factor are markers for clinical course but not for major metabolic changes in human immunodeficiency virus infection. *Metabolism* 1995; 44: 1564-1569.
41. Corica F, Allegra A, Corsoneo A, Buemi M, Calapai G, Ruello A et al. Relationship between plasma leptin levels and the tumor necrosis factor-alpha system in obese. *Int J Obes* 1999; 24: 350-360.
42. Hauner H, Bneder M, Haastert B, Hube F. Plasma concentrations of soluble TNF-alpha receptors in obese subject. *Int J Obes* 1998; 22: 1239-1243.
43. Uysal KT, Wiesbrock SM, Hotamisligil GS. Functional analysis of tumor necrosis factor (TNF) receptors in TNF-alpha-mediated insulin resistance in genetic obesity. *Endocrinology* 1998; 139: 4832-4838.
44. Fernández-Real JM, Broch M, Ricart W, Casamitjana R, Gutiérrez C, Vendrell J et al. Plasma levels of the soluble fraction of tumor necrosis factor receptor 2 and insulin resistance. *Diabetes* 1998; 47: 1757-1762.
45. Plata-Salaman CR, Oomura Y, Kai Y. Tumor necrosis factor and interleukin-1 beta: suppression of food intake by direct action in the central nervous system. *Brain Res* 1988; 448: 106-114.
46. Plata-Salaman CR, Borkoski JP. Chemokines/interleukins and central regulation of feedings. *Am J Physiol* 1994; 266: R1711-R1715.
47. Rothwell NJ. Central effects of TNF alpha on thermogenesis and fever in the rat. *Biosci Rep* 1988; 8: 345-352.
48. Coombes RC, Rothwell NJ, Shah P, Stock MJ. Changes in thermogenesis and brown fat activity in response to tumour necrosis factor in the rat. *Biosci Rep* 1987; 7: 791-799.
49. Rothwell NJ. Cytokines and thermogenesis. *Int J Obes* 1993; 17: S98-S101.
50. Schwartz MW, Dallman MF, Woods SC. Hypothalamic-response to starvation: implications for the study of wasting disorders. *Am J Physiol* 1995; 269: R949-R957.
51. Kinouchi K, Brown G, Pasternak G, Donner DB. Identification and characterization of receptors for tumor necrosis factor-alpha in the brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 181: 1532-1538.
52. Kapas L, Hong L, Cady AB, Opp MR, Postlethwaite AE, Seyer JM et al. Somnogenic, pyrogenic, and anorectic activities of tumor necrosis factor-alpha and TNF-alpha fragments. *Am J Physiol* 1992; 263: R708-R715.
53. Semb H, Peterson J, Tavernier J, Olivecrona T. Multiple effects of tumor necrosis factor on lipoprotein lipase in vivo. *J Biol Chem* 1987; 262: 8390-8394.
54. Grunfeld C, Gulli R, Moser AH, Lawrence AG, Feingold KR. Effect of tumor necrosis factor administration in vivo lipoprotein lipase activity in various tissues of the rat. *J Lipid Res* 1989; 30: 579-585.
55. Fried SK, Zechner R. Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis, and activity. *J Lipid Res* 1989; 30: 1917-1923.
56. López Soriano J, Llovera M, Carbo N, García Martínez C, López Soriano F, Argiles JM. Lipid metabolism in tumour-bearing mice: studies with knockout mice for tumour necrosis factor receptor 1 protein. *Mol Cell Endocrinol* 1997; 132: 93-99.
57. Green A, Dobias SB, Walters DJA, Brasier AR. Tumor necrosis factor increases the rate of lipolysis in primary cultures of adipocytes without altering levels of hormone-sensitive lipase. *Endocrinology* 1993; 134: 2581-2588.

58. Gasic S, Tian B, Green A. Tumor necrosis factor alpha stimulates lipolysis in adipocytes by decreasing Gi protein concentrations. *J Biol Chem* 1999; 274: 6770-6775.
59. Pekkala PH, Kawakami M, Angus CW, Lana MD, Cerami A. Selective inhibition of synthesis of enzymes for de novo fatty acid biosynthesis by an endotoxin-induced mediator from exudate cells. *Proc Natl Acad Sci* 1983; 80: 2743-2747.
60. Torti FM, Dieckmann B, Beutler B, Cerami A, Ringold GM. A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: an in vitro model of cachexia. *Science* 1985; 229: 867-869.
61. Feingold KR, Serio MK, Adi S, Moser AH, Grunfeld C. Tumor necrosis factor stimulates hepatic lipid synthesis and secretion. *Endocrinology* 1989; 124: 2336-2341.
62. Krauss RM, Grunfeld C, Doerfler WT, Feingold KR. Tumor necrosis factor acutely increases plasma levels of very low density lipoproteins of normal size and composition. *Endocrinology* 1990; 127: 1016-1021.
63. Feingold KR, Grunfeld C. Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. *Diabetes* 1992; 41 (Supl): 97-101.
64. Feingold KR, Adi S, Siaprans I, Moser AH, Neese R, Verdier JA et al. Diet affects the mechanisms by which TNF stimulates hepatic triglyceride production. *Am J Physiol* 1990; 259: E177-E184.
65. Kereneur A, Cambilau M, Kazatchkine M, Moatti N. Lipoprotein anomalies in HIV infection. *Ann Med Intern (Paris)* 1996; 147: 333-343.
66. Lang CH, Dobrescu C, Bagby GJ. Tumor necrosis factor impairs insulin action on peripheral glucose disposal and hepatic glucose output. *Endocrinology* 1992; 130: 43-52.
67. Stephens JM, Pekkala PH. Transcriptional repression of the GLUT4 and C/EBP genes in 3T3-L1 adipocytes by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *J Biol Chem* 1991; 266: 21839-21845.
68. Stephens JM, Pekkala PH. Transcriptional repression of the C/EBP- $\alpha$  and GLUT4 genes in 3T3-L1 adipocytes by tumor necrosis factor- $\alpha$ : regulation is coordinate and independent of protein synthesis. *J Biol Chem* 1992; 267: 13580-13584.
69. Charron MJ, Khan BB. Divergent molecular mechanisms for insulin-resistant glucose transport in muscle and adipose cells in vivo. *J Biol Chem* 1990; 265: 7994-8000.
70. Dohm GL, Elton CW, Friedman JE, Pilch PF, Pories WJ, Atkinson SM et al. Decreased expression of glucose transporter in muscle from insulin-resistant patients. *Am J Physiol* 1991; 260: E459-E463.
71. Myers MG, White MF. The new elements of insulin signaling. Insulin receptor substrate-1 and proteins with SH2 domains. *Diabetes* 1993; 42: 643-650.
72. Hotamisligil GS, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor  $\alpha$ : a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 1994; 43: 1271-1278.
73. Kasuga M, Karlsson FA, Khan CR. Insulin stimulates the phosphorylation of the 95,000-dalton subunit of its own receptor. *Science* 1982; 215: 185-187.
74. Rothenberg PL, Lane WS, Karasik A, Backer JM, White MF, Kahn CR. Purification and partial sequence analysis of pp185, the major cellular substrate of the insulin receptor tyrosine kinase. *J Biol Chem* 1991; 266: 8302-8311.
75. Sun XJ, Rothenberg PL, Khan CR, Backer JM, Araki E, Wilden P et al. Structure of the insulin receptor IRS-1 defines a unique signal transduction protein. *Nature* 1991; 352: 73-77.
76. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- $\alpha$  and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996; 271: 665-668.
77. 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.
78. Liu LS, Spelleken M, Rohing K, Hauner H, Eckel J. Tumor necrosis factor- $\alpha$  acutely inhibits insulin signaling in human adipocytes: implication of the p80 tumor necrosis factor receptor. *Diabetes* 1998; 47: 515-522.
79. Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D, Spiegelman BM. Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes: central role of tumor necrosis factor. *J Clin Invest* 1994; 94: 1543-1549.
80. Bulló-Bonet M, García-Lorda P, López-Soriano FK, Argilés JM, Salas-Salvadó J. Tumor necrosis factor, a key role in obesity? *FEBS* 1999; 451: 215-219.
81. Heney D, Wicher JT. Factors affecting the measurement of cytokines in biological fluids: implications on their clinical measurement. *Ann Clin Biochem* 1995; 32: 358-368.
82. Moreau F, Philippé J, Couvent S, Leroux-Roels G. Interference of soluble TNF- $\alpha$  receptors in immunological detection of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Clin Chem* 1996; 42: 1450-1453.
83. Bienvenu J, Coulon L, Doche C, Gutowski MC, Grau GE. Analytical performances of commercial ELISA-kits for IL-2, IL-6 and TNF $\alpha$ : A WHO study. *Eur Cytokine Netw* 1993; 4: 447-451.
84. Hotamisligil GS, Amer P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995; 95: 2409-2415.
85. Kellerer M, Rett K, Renn W, Groop L, Haring HU. Circulating TNF- $\alpha$  and leptin levels in offspring of NIDDM patients do not correlate to individual insulin sensitivity. *Horm Metab Res* 1996; 28: 737-743.
86. Sinha MK, Rainieri-Maldonado C, Buchanan C, Pories WJ, Carter-Su C, Pilch PF et al. Adipose tissue glucose transporters in NIDDM: Decreased levels of muscle/fat isoform. *Diabetes* 1991; 40: 472-477.
87. Garvey WT, Maianu L, Huecksteadt TP, Bimbaum MJ, Molina JM, Ciaraldi TP. Pretranslational suppression of a glucose transporter protein causes insulin resistance in adipocytes from patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity. *J Clin Invest* 1991; 87: 1072-1081.
88. Giorgino F, Almahfouz A, Goodyear LJ, Smith RJ. Glucocorticoid regulation of insulin receptor and substrate IRS-1 tyrosine phosphorylation in rat skeletal muscle in vivo. *J Clin Invest* 1993; 91: 2020-2030.
89. Ciraldi TP, Carter L, Mudalliar S, Kern PA, Henry RR. Effects of tumor necrosis factor- $\alpha$  glucose metabolism in cultured human muscle cells from nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *Endocrinol* 1998; 139: 4793-4800.
90. Noguchi Y, Yoshikawa T, Marat D, Doi C, Makino T, Fukuzawa K et al. Insulin resistance in cancer patients is associated with enhanced tumor necrosis factor- $\alpha$  expression in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 253: 887-892.
91. Feinstein R, Kanety H, Papa MZ, Lunenfeld B, Karasik A. Tumor necrosis factor- $\alpha$  suppresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. *J Biol Chem* 1993; 268: 26055-26058.
92. Ofei F, Hurel S, Newkirk J, Sopwith M, Taylor R. Effects of an engineered human anti-TNF- $\alpha$  antibody (COPST1) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes* 1996; 45: 881-885.
93. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Protection from obesity-induced resistance in mice lacking TNF- $\alpha$  function. *Nature* 1997; 389: 610-614.
94. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor  $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259: 87-91.
95. Bouchard C, Pérusse L. Genetics of obesity. *Ann Rev Nutr* 1993; 13: 337-354.
96. Paolisso G, Rosaria Rizzo M, Mazziotti G, Tagliamonte MR, Gambardella A, Rotondi M et al. Advancing age and insulin resistance: role of plasma tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Am J Physiol* 1998; 275: E294-E299.
97. Kern P, Ong JM, Bauman MS, Cary J. The effects of weight loss on the activity and expression of adipose-tissue lipoprotein lipase in very obese humans. *N Engl J Med* 1990; 1053-1059.
98. Jansson PA, Larsson A, Smith U, Lönroth P. Glycerol production in subcutaneous adipose tissue in lean and obese humans. *J Clin Invest* 1992; 89: 1610-1617.
99. Zumbach MS, Boebme MWJ, Whal P, Stremmel W, Ziegler R, Nawroth PP. Tumor necrosis factor increases serum leptin levels in humans. *J Clin Endocr Metab* 1997; 82: 4080-4082.
100. 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.
101. Yamaguchi M, Murakami T, Toinimatsu T, Nishio Y, Mitsuda N, Kanzaki T et al. Autocrine inhibition of leptin production by tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) through TNF- $\alpha$  type 1 receptor in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 244: 30-44.
102. Medina EA, Stanhope KL, Mizuno TM, Mobbs CV, Gregoire F, Hubbard EN et al. 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.
103. Morin CL, Pagliassotti MJ, Wind Miller D, Eckel RM. Adipose tissue-derived TNF $\alpha$  activity is elevated in older rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1997; 52: B190-B195.
104. Viasara H, Brownlee M, Manogue KR, Dinarello CA, Pasagian A. Cachetin/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science* 1988; 240: 1546-1548.
105. Morin CL, Eckel RH, Marcel T, Pagliassotti MJ. High fat diets elevate adipose tissue-derived tumor necrosis factor- $\alpha$  activity. *Endocrinology* 1997; 138: 4665-4671.
106. Westerterp KL. Food quotient, respiratory quotient and energy balance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 759S-765S.
107. Ravussin E, Lillioja S, Knowler WC, Christin L, Freymond D, Abbott WG et al. Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body-weight gain. *N Engl J Med* 1989; 318: 467-472.
108. Ravussin E. Metabolic differences and the development of obesity. *Metabolism* 1985; 44 (Supl 3): 12-14.
109. Valtuena S, Salas-Salvadó J, Lorda PG. The respiratory quotient as a prognostic factor in weight-loss rebound. *Int J Obes* 1997; 21: 811-817.
110. Howard B, Bogardus C, Ravussin E, Foley JE, Lillioja S, Mott DM et al. Studies of the etiology of obesity in Pima Indians. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1577S-1585S.



## ANEXO III .

**Tumour necrosis factor, a key role in obesity?**

*FEBS Letters 1999*

## Minireview

# Tumour necrosis factor, a key role in obesity?

M. Bulló-Bonet<sup>a</sup>, P. García-Lorda<sup>a</sup>, F.J. López-Soriano<sup>b</sup>, J.M. Argilés<sup>b,\*</sup>, J. Salas-Salvadó<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Unitat de Nutrició Humana, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut de Reus, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain*

<sup>b</sup> *Unitat de Bioquímica i Biologia Molecular B, Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, 08071-Barcelona, Spain*

Received 12 February 1999; received in revised form 30 March 1999

**Abstract** Tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF) is a pleiotropic cytokine involved in many metabolic responses in both normal and pathophysiological states. In spite of the fact that this cytokine (also known as "cachectin") has been related to many of the metabolic abnormalities associated with cachexia, recent studies suggest that TNF may also have a central role in obesity modulating energy expenditure, fat deposition and insulin resistance. This review deals with the role of TNF in the control of fat mass and obesity.

© 1999 Federation of European Biochemical Societies.

**Key words:** TNF; Insulin resistance; Adipose tissue; Obesity

## 1. Introduction

Obesity is a multifactorial syndrome representing one of the most important pathological states in Western countries. It therefore represents a highly expensive problem. This metabolic state is associated with hypertension, atherosclerosis, diabetes, cardiovascular problems and certain types of cancer.

Obesity is characterized by an increase in body fat stores linked to a lack of control on food intake and/or energy expenditure. Very recent experimental data have shown that fat tissue plays a pivotal role in the control of its own mass. Thus, adipose tissue is able to synthesize and release molecules which are able to regulate food intake and energy expenditure into the circulation, and therefore acts as an endocrine tissue. Among these compounds, leptin (the product of the *ob* gene) and tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF) might play a very important role. The aim of the present review is to summarize the experimental evidence involving TNF in human obesity.

## 2. TNF as a pleiotropic cytokine

Tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF) is a pleiotropic factor that exerts a variety of effects, such as growth promotion, growth inhibition, angiogenesis, cytotoxicity, inflammation, and immunomodulation [1]. This cytokine is synthesized mainly by macrophages in response to invasive stimuli, as an active 26 kDa membrane-bound precursor that is cleaved proteolytically to a mature 17 kDa form with the prosequence polypeptide remaining associated to the membrane [2]. The peptide is bioactive as a 51 kDa trimer, which can be recognized by two different receptors, TNFR1 or p55 (55 kDa) and TNFR2 or

p75 (75 kDa). The human forms are known as p60 and p80 respectively, due to their slightly higher molecular weight. All these receptors are dimeric membrane-bound glycosylated proteins present in the majority of cellular types. In spite of this, the proportion of the two receptors varies between the different tissues. Interestingly, the affinity of the cytokine is higher for TNFR1 [3] in spite of the high homology that both receptors show in the extracellular domain. In addition to binding TNF, other cytokines can also bind to these receptors, thereby conferring a high pleiotropic potential. Although the exact biological functions of the two receptors are still not fully understood, it has been suggested that TNFR1 plays an important role in both the pro-inflammatory and cytotoxic responses [4], while the other receptor may act simply modulating the response generated by TNFR1 [5]. Due to its high affinity for its receptors, TNF can either act in an autocrine or paracrine way at low concentrations or in an endocrine fashion when it is released in high concentrations.

In addition to the membrane-bound receptors, soluble forms of the two receptors (corresponding to the extracellular domains and generated by proteolysis) are found in healthy individuals [6,7], and show a higher degree of affinity for the cytokine than the corresponding bound forms. When TNF is bound to these soluble receptors, it can no longer interact with the membrane forms and, therefore, it has been speculated that the presence of the soluble forms may constitute a way of regulating TNF actions [8]. Highly elevated concentrations of the soluble receptors are found in the course of AIDS [9], endotoxemia [10] or cancer [11], which suggests a regulatory mechanism to counteract TNF production. Interestingly, Hotamisligil et al. [12] have shown that TNFR2 is overexpressed in adipose tissue of obese humans (with a strong correlation with BMI, hyperinsulinaemia and TNF mRNA levels in adipose tissue) and that the levels of the soluble receptor (sTNFR2) are elevated six-fold in the obese subjects as compared with the healthy controls. Conversely, the same authors report no change for the TNFR1 mRNA levels or circulating levels in the same group of patients. These results suggest that TNFR2 may play a role in obesity by modulating the actions of TNF. In addition, recent data show that TNF is also synthesized in non-immune cells such as muscle or adipose cells [13-15].

## 3. TNF induces important metabolic changes

In adipose tissue, TNF inhibits lipoprotein lipase synthesis [16] as well as the synthesis of acetyl-CoA carboxylase [17], fatty acid synthase [18], fatty acid-binding protein and glycerol phosphate dehydrogenase [19], all these enzymes being involved in fat synthesis. This cytokine also stimulates triacyl-

\*Corresponding author. Fax: +34 934021559.  
E-mail: argiles@porthos.bio.ub.es

glycerol degradation in the adipocyte by activating the hormone-sensitive lipase [18]. Partly as a result of these metabolic changes in adipose tissue and partly because it stimulates liver lipogenesis [20] and hepatic VLDL production [21], TNF causes a severe hypertriglyceridaemia. The high levels of the cytokine found in cancer [22] and chronic infection, AIDS in particular [23], could be related to the hypertriglyceridaemia present in these patients.

Concerning carbohydrate metabolism, the results obtained with experimental models are somewhat conflicting. It was first described that the cytokine increased glucose turnover and utilization in peripheral tissues in vivo [24]. However, TNF did not stimulate glucose utilization by rat epitrochlearis muscle in vitro [25]. Similarly, glucose utilization was not increased by TNF in isolated spleen cells or alveolar macrophages [25], suggesting that its action in vivo may not be direct. Later in vitro studies seem to indicate that TNF causes a decrease of insulin-induced glucose uptake in isolated cells due to a decrease in glucose (GLUT4) transporters [26]. However, no such evidence has been found in vivo.

#### 4. TNF and insulin resistance

Pathological situations associated with a high TNF production show a state of peripheral insulin resistance. Among them, endotoxemia, cancer and trauma are normally associated with increases in circulating TNF and peripheral insulin resistance. Thus, the general clinical impression is that the insulin dose for diabetic patients must be increased if infection is present, thus suggesting an additional impairment to insulin resistance [27] (Fig. 1). Lang and Dobrescu [28], using an euglycemic clamp in septic rats (induced by injection of live *E. coli*), found that the septic state induced peripheral insulin resistance. It is well known that during infection there is a stimulation of macrophage TNF production by means of either LPS or other endotoxins released by the infecting agent. In addition, chronic administration of TNF to rats induces systemic insulin resistance [29]. Clinical administration of TNF to healthy humans has been reported as reducing insulin sensitivity by inducing hyperglycemia without lowering insulin levels [30].

Thus, since NIDDM is characterized by profound insulin resistance, TNF could also be responsible for this pathological state. Measurement of gene expression and protein levels for the cytokine in type II diabetic patients has confirmed this hypothesis [13,14]. In addition, an elevated expression of TNF was implicated in animal models of obesity and in the insulin-resistant diabetes mellitus which accompanies the disorder. In four models of obesity and insulin-resistant diabetes (the *fa/fa* obese Zucker rat, the *ob/ob* obese mice, the *tbl/tbl* obese mice and the *db/db* obese diabetic mice), expression of TNF mRNA in adipose tissue was induced, with corresponding elevation of TNF protein both locally and systemically [31]. Interestingly, in vitro studies using fully differentiated 3T3-L1 adipocytes have shown that when the cells are exposed to TNF they became insulin-resistant since insulin is not able to stimulate hexose transport [26]. This appears to be a consequence of a down-regulation in the expression of GLUT4, the insulin-stimulable glucose transporter. This observation may explain why in the same kind of cells, incorporation of glucose into lipids is diminished after incubation with supernatants of activated macrophages [18]. The same

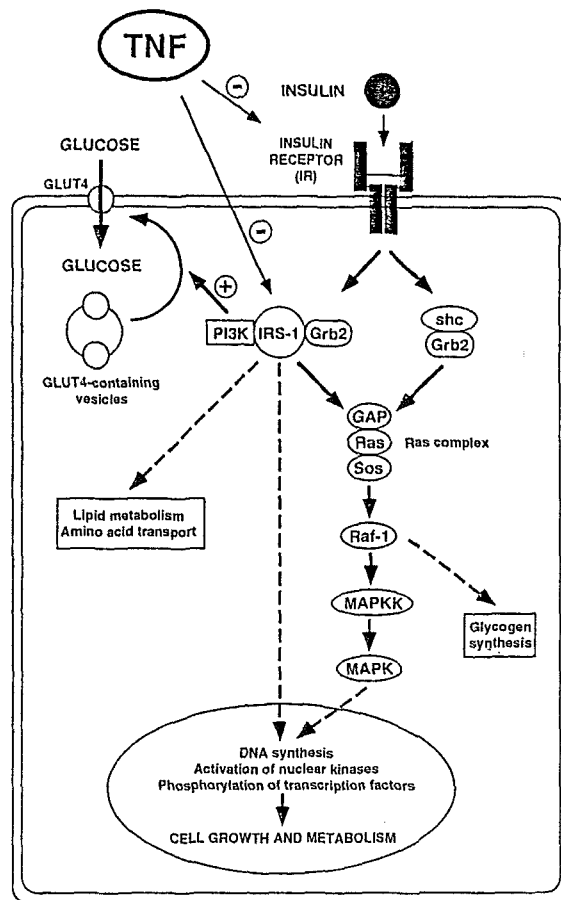


Fig. 1. Impairment of insulin action by TNF. TNF generates a state of multiple insulin resistance (liver, adipose, skeletal muscle) basically by decreasing insulin receptor (IR) and IRS phosphorylation and therefore the insulin signalling cascade. The results are changes in GLUT4 expression and the relevant metabolic alterations, such as an increase in lipolytic rate or a decrease in LPL in adipose tissue or a decrease in amino acid transport in skeletal muscle.

authors reported that long-term treatment of 3T3-F442A adipocytes with TNF led to down-regulation of the GLUT4 mRNA, and although no similar results have yet been reported in humans, their results suggest that the cytokine could be a key mediator of abnormal gene expression in obesity diabetes syndromes and could affect glucose homeostasis. In the same study, in vivo administration of the human TNF soluble receptor partially reversed the resistance to glucose-stimulated glucose uptake, thus suggesting that TNF could be one of the mediators of insulin resistance in several experimental obesity models [32]. Kern et al. [13] have reported an elevated expression of the TNF gene in the adipose tissue of obese subjects, with a high correlation existing between the levels of TNF mRNA, the body mass index and the circulating insulin levels. In the same study, however, there was no correlation found when the patients had a BMI above 45 kg/m<sup>2</sup>. This discrepancy illustrates the complexity of the etiology of the obesity syndrome in humans which can only be fully understood by integrating different modulatory mechanisms. Most interestingly, Saghizadeh et al. [15] have found that the TNF gene is also overexpressed in skeletal muscle in diabetic subjects, which further supports the role of the cytokine in the induction of a generalized state of insulin resistance.

Considerable attention is now being focused on the mechanism by which TNF induces resistance in the cascade of insulin signal transduction, the mechanism for tissue-specific overexpression in the obese adipocyte, and the possibility that interference with the pathway could be a new therapeutic approach to abrogate insulin resistance and thereby obesity-induced diabetes. Hofmann et al. [33] have shown an overexpression of TNF mRNA and TNF receptors mRNA in adipose tissue and muscle from a mouse model of non-insulin-dependent diabetes mellitus, the obese KKA<sup>y</sup> mice. They also observed that the elevated expression of TNF mRNA can be partially reduced by oral administration of an insulin-sensitizing drug. Hotamisligil et al. [34] have shown that TNF has the ability to decrease the tyrosine kinase activity of the insulin receptor (IR). Treatment of cultured murine adipocytes with TNF was shown to induce serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1) and convert IRS-1 into an inhibitor of the insulin receptor tyrosine kinase in vitro, thus indicating that TNF induces insulin resistance through an unexpected action of IRS-1 attenuating insulin receptor signalling. Similar results were obtained with other cellular types such as hepatocytes [35,36], adipocytes [34,37], muscle cells [38] and fibroblasts [39,40]. It may thus be suggested that TNF expression is involved in a physiological loop, perhaps related to a limitation of obesity at the expense of promoting insulin resistance [41].

In spite of the experimental data, clinical observations based on blocking TNF action to counteract insulin resistance do not support the efficacy of this type of treatment. Thus Ofei et al. [42], after treating obese NIDDM patients with a monoclonal TNF antibody concluded that there was no reversal of insulin sensitivity or glycaemic control.

##### 5. Has TNF a role in the control of adipose tissue mass?

In addition to the fact that both adipose and muscle tissue from either obese or diabetic subjects overexpress the TNF gene, the circulating levels of the cytokine are also correspondingly elevated, thus suggesting that the action of the cytokine is not just limited to the tissue where it is produced [43-46]. Indeed, TNF may act as a local signal regulating, in addition to insulin resistance, fat accumulation either directly by means of modulating the expression and synthesis of key enzymes in lipid accretion such as LPL [16] or hormone-sensitive lipase [18] or, indirectly, by controlling the rate of leptin secretion [47]. This molecule has been shown to have important effects on lipid metabolism in the adipocyte [48].

The etiology of human adiposity is complex and multifactorial and, on the basis of twin studies, is thought to have a strong genetic component. Genetic studies using sibling pair analysis have shown a linkage between a marker near the TNF locus and body fat content in Pima Indians [49].

But, what is the mechanism that activates adipocyte TNF mRNA synthesis during obesity? Bearing in mind that the TNF is in fact a counteracting molecule that will act to limit obesity, the adipocyte size could be involved. Other hormonal factors (elevated in the serum of obese patients) are the levels of insulin, IGF-1, glucocorticoids or other glucose-modified proteins [50] and could indeed have a role. Very recently, Morin et al. [51] have shown that diet fat content may influence the levels of TNF mRNA in adipocytes. Indeed, Wistar rats receiving isoenergetic diets but with a higher fat content

(45% vs. 12% in controls) showed a higher TNF gene expression in adipose tissue. It is worth mentioning here that West-erterp [52] found a direct correlation between fat intake and obesity influence in human subjects, therefore reinforcing a possible role for ingested fat in modulating fat accumulation in adipose tissue.

A very elegant approach to elucidating the role of TNF in obesity consisted of generating obesity (either induced by diet or by crossing the mice with *ob/ob* animals) in TNF-deficient mice. Thus, Uysal et al. [53] generated obese mice with a targeted null mutation in the gene encoding TNF and also those encoding for the two TNF receptors. TNF-deficient mice show a lower body weight and fat accumulation than the wild-type. The absence of TNF resulted in significantly improved insulin sensitivity in both diet-induced obese mice and the ones related to the *ob/ob* model of obesity. These results clearly indicate that TNF is an important mediator of insulin resistance through its effects on several important sites of insulin action. Similarly Ventre et al. [54], also using mice lacking TNF, concluded that the cytokine was involved in the insulin sensitivity present in an hyperphagic model of rodent obesity.

To understand the implication of TNF in obesity in humans, studies with a longitudinal design become necessary where subjects with a low energy expenditure, a higher respiratory quotient (indicating a lower lipid oxidation) or a lower insulin sensitivity are followed for a long period of at least 10 years in a similar fashion to the studies carried out with the Pima Indians [55]. The fact that TNF may interfere in either of these three factors seems very attractive and therefore this type of study could serve to definitely conclude that TNF is involved in the control of body weight in human populations, both in health and disease, in this case, obesity.

##### 6. Concluding remarks: TNF and leptin?

In conclusion, insulin resistance, associated with human obesity, is basically due to both a decrease in the levels of insulin-responsive glucose transporters and a decrease in the signal transduction associated with the binding of insulin to its receptors. It could be speculated that the generation of insulin resistance represents a mechanism to counteract the expansion of body fat [56] and therefore limits obesity. TNF seems to have a main role in activating this mechanism. However, TNF cannot be considered as the sole mediator or "adipostat" involved in the regulation of adipose mass (Fig. 2). The relatively ancient concept of the "adipostat" refers to the fact that the size of the body fat depot is sensed by the central nervous system through a product of fat metabolism circulating in the blood and affecting energy balance by interacting with the hypothalamus [57]. Many mediators have been proposed as carrying out this important function [58]. However, it has not been until recently that the discovery of leptin [59] caused a complete revolution in the field of body weight control. Indeed the product of the *ob* gene is a protein of 16 kDa synthesized in adipose tissue and secreted into the bloodstream. The molecule travels to the brain where it can act as a ponderostat or adipostat signal informing the brain of the adipose tissue mass, its main action resulting in the loss of appetite. Actually, the word leptin comes from the Greek "leptos" which means thin. The *ob/ob* mice have a defect in the production of this protein, resulting in hyperphagia and,

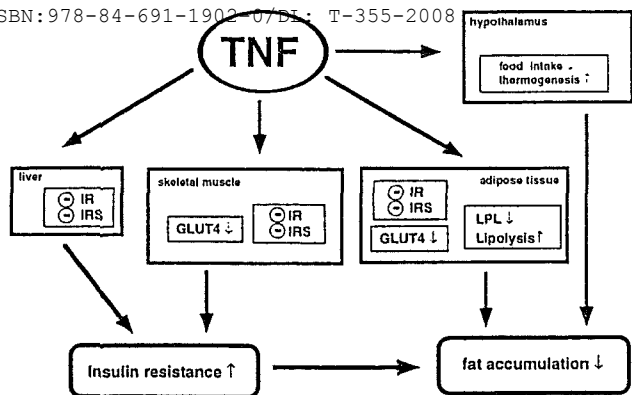


Fig. 2. Mechanisms involved in the regulation of body fat by TNF. TNF exerts multiple effects at different sites. It may influence food intake (either through leptin or IL-1) and thermogenesis both in BAT and skeletal muscle, therefore counteracting fat expansion. Similarly, it modulates LPL and hormone-sensitive lipase activities in adipose tissue, decreasing fat accumulation. On the other hand, it generates a state of multiple insulin resistance (liver, adipose, skeletal muscle) basically by decreasing the expression of GLUT4 transporters and by decreasing IRS phosphorylation and therefore the insulin signalling cascade. The insulin resistance status also contributes to the regulation of the adipose mass.

consequently, obesity. In other experimental models, such as the *fatty* rat, the production of the compound is normal but there seems to be a defect in the brain receptor [60], whose amino acid sequence indicates that it is similar to those found in class I cytokine receptor family [61]. In humans, leptin levels and production are correlated with fat mass and adipocyte size [62]; however, morbid obesity involves a certain degree of leptin resistance, and leptin levels do not correlate with BMI [63], as well as they do with other obese patients. Feeding a high-fat diet results in an increase in leptin production; conversely, weight decrease results in lower leptin levels [64]. In addition, leptin production is also under hormonal control, insulin having a key role in its production. It seems that hyperinsulinaemic-euglycaemic clamp in rats results in an increase in leptin mRNA in adipose tissue [65]. In addition, insulin causes an increase in leptin mRNA in cultured adipocytes, indicating a direct effect of the hormone on adipocyte leptin synthesis [66]. Similar actions on leptin expression are induced by glucocorticoids [67].

Taking TNF into consideration, we find very similar trends to those observed with leptin. First, it is expressed and secreted by adipose tissue and can influence thermogenesis and indirectly, possibly either via IL-1 or leptin [68], food intake. On the other hand, TNF has a direct (possibly paracrine) function in adipose tissue where it limits mass by stimulating lipolysis and decreasing LPL activity. We now know that leptin could have a similar function on lipid metabolism in adipose tissue [69]. TNF can also travel to the brain and influence hypothalamic function. One problem confronting such a hypothesis is the presence of the blood-brain barrier. However, a number of peripheral peptides, including angiotensin II, can rapidly affect the hypothalamus through nerve cells in the region of the circumventricular organs that lie outside the blood-brain barrier [70]. Alternatively, signals could be brought to the hypothalamus through nerve cells in the region of vagal afferent axons. Indeed, the intracranial administration of cytokines results in a more effective stimulation of thermogenesis [71]. TNF thus exerts central actions

which are complementary to the peripheral effects on tissues. In addition, TNF administration results in an increase in circulating leptin concentrations [68].

If TNF is a central adipostatic molecule involved in fat mass and body weight control, what happens during obesity? Firstly, there is an overexpression of the cytokine, which is aimed at stopping the hypertrophy of the tissue. The paracrine TNF action is thus aimed to decrease LPL activity and increase lipolysis at the same time as it generates insulin resistance (interfering with the entry of glucose into the cells) which further hampers the enlargement of the adipose tissue. Secondly, in obesity one should talk about a certain "TNF resistance" since the TNF which is released from adipose tissue does not seem to have a very important effect on the control of thermogenesis and food intake. Interestingly, Dascombe et al. [72] have demonstrated that genetically obese rats are not affected to the same extent (in terms of food intake decrease and increased BAT thermogenesis) as lean ones after intracranial injections of the cytokine.

Finally, it has to be taken into consideration that it is not being suggested here that TNF is the sole adipostat; to the contrary, it is being postulated that the control of the fat mass is accomplished by different molecules (which signal to the brain fat mass). Among these molecules involved in the adipostatic function, TNF and leptin have fundamental roles, the former directly by influencing lipid metabolism and the later probably only by being a satiety factor and an insulin-counterregulatory hormone.

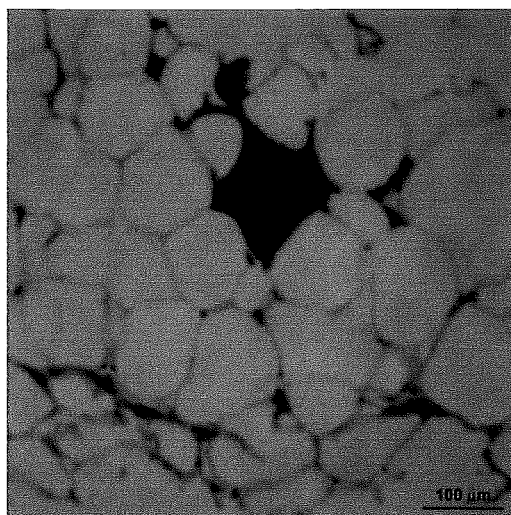
## References

- [1] Aggarwal, B.B. and Natarajan, K. (1996) *Eur. Cytokine. Netw.* 7, 93-124.
- [2] Jue, D.M., Sherry, B., Luedke, C., Manogue, K.R. and Cerami, A. (1990) *Biochemistry* 29, 8371-8377.
- [3] Grell, M., Wajant, H., Zimmermann, G. and Scheurich, P. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 570-575.
- [4] Flier, J.F. and Underhill, L.H. (1996) *N. Engl. J. Med.* 334, 1717-1725.
- [5] Peschon, J.J., Torrance, D.S., Stocking, K.L., Glaccum, M.B., Otten, C., Willis, C.R., Charrier, K., Morrissey, P.J., Ware, C.B. and Mohler, K.M. (1998) *J. Immunol.* 160, 943-952.
- [6] Moreau, E., Philippé, J., Couvent, S. and Leroux-Roels, G. (1996) *Clin. Chim. Acta* 247, 1450-1453.
- [7] Fernández-Real, J.M., Broch, M., Ricart, W., Casamitjana, R., Gutiérrez, C., Vendrell, J. and Richart, C. (1998) *Diabetes* 47, 1757-1762.
- [8] Aderka, D., Engelmann, H., Maor, Y., Brakesbusch, C. and Wallach, D. (1992) *J. Exp. Med.* 175, 323-329.
- [9] Godfried, M.H., Romijn, J.A., Van der Poll, T., Weverling, G.J., Corssmit, E.P., Endert, E., Eeftinck-Schattenkerk, J.K. and Sauerwein, H.P. (1995) *Metabolism* 44, 1564-1569.
- [10] Spinaz, G.A., Keller, U. and Brockhaus, M. (1992) *J. Clin. Invest.* 90, 533-536.
- [11] Elsasser-Beile, V., Gallati, H., Weber, W., Wild, E.D., Schulte-Monting, J. and von Kleist, S. (1994) *Tumour Biol.* 15, 17-24.
- [12] Hotamisligil, G.S., Arner, P., Atkinson, R.L. and Spiegelman, B.M. (1997) *Diabetes* 46, 451-455.
- [13] Kern, P.A., Saghizadeh, M., Ong, J.M., Bosch, R.J., Deem, R. and Simsolo, R.B. (1995) *J. Clin. Invest.* 95, 2111-2119.
- [14] Hotamisligil, G.S., Arner, P., Caro, J.F., Atkinson, R.L. and Spiegelman, B.M. (1995) *J. Clin. Invest.* 95, 2409-2415.
- [15] Saghizadeh, M., Ong, J.M., Garvey, W.T., Henry, R.R. and Kern, P.A. (1996) *J. Clin. Invest.* 97, 1111-1116.
- [16] Semb, H., Peterson, J., Tavernier, J. and Olivecrona, T. (1987) *J. Biol. Chem.* 262, 8390-8394.
- [17] Pape, M.E. and Kim, K.H. (1988) *Mol. Endocrinol.* 2, 395-403.

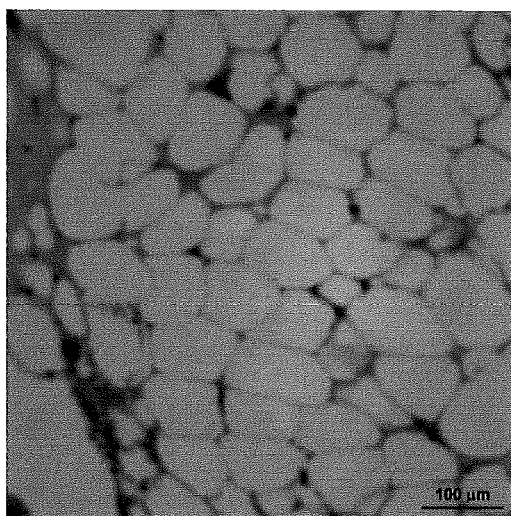
ISBN: 978-84-691-1902-0/DL: T-355-2008

- [18] Pekala, P.H., Kawakami, M., Angus, C.W., Lane, M.D. and Cerami, A. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, 2743-2747.
- [19] Torti, F.M., Dieckmann, B., Beutler, B., Cerami, A. and Ringold, G.M. (1985) *Science* 229, 867-869.
- [20] Feingold, K.R. and Grunfeld, C. (1987) *J. Clin. Invest.* 80, 184-190.
- [21] Grunfeld, C. and Palladino, M.A. (1990) *Adv. Intern. Med.* 35, 45-71.
- [22] Balkwill, F., Burke, F., Talbot, D., Tavernier, J., Osborne, R., Naylor, S., Durbin, H. and Fiers, W. (1987) *Lancet* 2, 1229-1232.
- [23] Kereveur, A., Cambillau, M., Kazatchkine, M. and Moatti, N. (1996) *Ann. Med. Interne Paris* 147, 333-343.
- [24] Mészáros, K., Lang, C.H., Bagby, G.J. and Spitzer, J.J. (1988) *FASEB J.* 2, 3983-3986.
- [25] Mészáros, K., Lang, C.H., Bagby, G.J. and Spitzer, J.J. (1987) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 149, 1-6.
- [26] Stephens, J.M. and Pekala, P.H. (1991) *J. Biol. Chem.* 266, 21839-21845.
- [27] Rayfield, E.J., Ault, M.J., Keusch, G.T., Brothers, M.J., Nechemias, C. and Smith, H. (1982) *Am. J. Med.* 72, 439-450.
- [28] Lang, C.H. and Dobrescu, C. (1989) *Am. J. Physiol.* 257, E301-E308.
- [29] Lang, C.H., Dobrescu, C. and Bagby, G.J. (1992) *Endocrinology* 130, 43-52.
- [30] Van der Poll, T., Romijn, A., Endert, E., Borm, J.J.J., Buller, H.R. and Sauerwein, H.P. (1991) *Am. J. Physiol.* 261, E457-E465.
- [31] Hotamisligil, G.S., Shargill, N.S. and Spiegelman, B.M. (1993) *Science* 259, 87-91.
- [32] Spiegelman, B.M. and Hotamisligil, G.S. (1993) *Cell* 73, 625-627.
- [33] Hofmann, C., Lorenz, K., Braithwaite, S.S., Colca, J.R., Palazuk, B.J., Hotamisligil, G.S. and Spiegelman, B.M. (1994) *Endocrinology* 134, 264-270.
- [34] Hotamisligil, G.S., Peraldi, P., Budavari, A., Ellis, R., White, M.F. and Spiegelman, B.M. (1996) *Science* 271, 665-668.
- [35] Ahmad, F. and Goldstein, B.J. (1997) *J. Cell. Biochem.* 64, 117-127.
- [36] Feinstein, R., Kanety, H., Papa, M.Z., Lunenfeld, B. and Karasik, A. (1993) *J. Biol. Chem.* 268, 26055-26058.
- [37] Liu, L.S., Spelleken, M., Röhrig, K., Hauner, H. and Eckel, J. (1998) *Diabetes* 47, 515-522.
- [38] Storz, P., Döppler, H., Wernig, A., Pfizenmaier, K. and Müller, G. (1998) *FEBS Lett.* 440, 41-45.
- [39] Kroder, G., Bossenmaier, B., Kellerer, M., Capp, E., Stoyanov, B., Mülhölfer, A., Berti, L., Horikoshi, H., Ullrich, A. and Haring, H. (1996) *J. Clin. Invest.* 97, 1471-1477.
- [40] Haring, H.U., Kellerer, M. and Mosthaf, L. (1994) *Diabetologia* 37, S149-S154.
- [41] Argilés, J.M., López-Soriano, J., Busquets, S. and López-Soriano, F.J. (1997) *FASEB J.* 11, 743-751.
- [42] Ofei, F., Hurel, S., Newkirk, J., Sopwith, M. and Taylor, R. (1996) *Diabetes* 45, 881-885.
- [43] Katsuki, A., Sumida, Y., Murashima, S., Murata, K., Takarada, Y., Ito, K., Fuji, M., Tsuchihashi, K., Goto, H., Nakatani, K. and Yano, Y. (1998) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 859-862.
- [44] Winkler, G., Salamon, F., Harmos, G., Salamon, D., Speer, G., Szekeres, O., Hajos, P., Kovacs, M., Simon, K. and Cseh, K. (1998) *Diabetes Res. Clin. Pract.* 42, 169-174.
- [45] Dandona, P., Weinstock, R., Thusu, K., Abdelrahman, E., Aljada, A. and Wadden, T. (1998) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 2907-2910.
- [46] Paolisso, G., Rizzo, M.R., Mazziotti, G., Tagliamonte, M.R., Gambardella, A., Rotondi, M., Carella, C., Giugliano, D., Varrichio, M. and D'Onofrio, F. (1998) *Am. J. Physiol.* 275, E294-E299.
- [47] Kirchgessner, T.G., Uysal, K.T., Wiesbrock, S.M., Marino, M.W. and Hotamisligil, G.S. (1998) *J. Clin. Invest.* 100, 2777-2782.
- [48] López-Soriano, J., Carbó, N., López-Soriano, F.J. and Argilés, J.M. (1998) *FEBS Lett.* 431, 371-374.
- [49] Norman, R.A., Bogardus, C. and Ravussin, E. (1995) *J. Clin. Invest.* 96, 158-162.
- [50] Vlassara, H., Brownlee, M., Manogue, K.R., Dinarello, C.A. and Pasagian, A. (1988) *Science* 240, 1546-1548.
- [51] Morin, C.L., Eckel, R.H., Marcel, T. and Pagliassotti, M.J. (1997) *Endocrinology* 138, 4665-4671.
- [52] Westterterp, K.R. (1993) *Am. J. Clin. Nutr.* 57, 759S-765S.
- [53] Uysal, K.T., Wiesbrock, S.M., Marino, M.W. and Hotamisligil, G.S. (1997) *Nature* 389, 610-614.
- [54] Ventre, J., Doebber, T., Wu, M., MacNaul, K., Stevens, K., Pasparakis, M., Kollias, G. and Moller, D.E. (1997) *Diabetes* 46, 1526-1531.
- [55] Ravussin, E., Lillioja, S., Knowler, W.C., Christin, L., Freymond, D., Abbott, W.G., Boyce, V., Howard, B.V. and Bogardus, C. (1988) *N. Engl. J. Med.* 318, 467-472.
- [56] Argilés, J.M., López-Soriano, J., Busquets, S. and López-Soriano, F.J. (1997) *FASEB J.* 11, 743-751.
- [57] Kennedy, G. (1953) *Proc. R. Soc. B* 140, 578-592.
- [58] Faust, I.M. (1981) in: L.A. Cioffi, W.P.T. James and T.B. Van Itallie (Eds.), *The Body Weight Regulatory System: Normal and Disturbed Mechanisms*, Raven Press, New York, pp. 39-43.
- [59] Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. and Friedman, J.M. (1994) *Nature* 372, 425-432.
- [60] Phillips, M.S., Liu, Q., Hammond, H.A., Dugan, V.M., Hey, P.J., Caskey, C.T. and Hess, J.F. (1996) *Nat. Genet.* 13, 18-19.
- [61] Madej, T., Boguski, M.S. and Bryant, S.H. (1995) *FEBS Lett.* 373, 13-18.
- [62] Hamann, A. and Matthaei, S. (1996) *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 104, 293-300.
- [63] Clement, K., Lahlou, N., Ruiz, J., Hager, J., Bougneres, P., Basdevant, A., Guy-Grand, B. and Froguel, P. (1997) *Int. J. Obes.* 21, 556-561.
- [64] Frederich, R.C., Hamann, A., Anderson, S., Löllmann, B., Lowell, B.B. and Flier, J.S. (1995) *Nat. Med.* 1, 1311-1314.
- [65] Frederich, R.C., Löllmann, B., Hamann, A., Napolitano-Rosen, A., Kahn, B.B. and Flier, J.S. (1995) *J. Clin. Invest.* 95, 1658-1663.
- [66] Leroy, P., Dessolin, S., Villageois, P., Moon, B.C., Friedman, J.M., Ailhaud, G. and Dani, C. (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 2365-2368.
- [67] De Vos, P., Saladin, R., Auwerx, J. and Staels, B. (1995) *J. Biol. Chem.* 270, 15958-15961.
- [68] Grunfeld, C., Zhao, C., Fuller, J., Pollock, A., Moser, A., Friedman, J. and Feingold, K.R. (1996) *J. Clin. Invest.* 97, 2152-2157.
- [69] Sanchís, D., Busquets, S., Alvarez, B., Ricquier, D., López-Soriano, F.J. and Argilés, J.M. (1998) *FEBS Lett.* 436, 415-418.
- [70] Tanaka, J. and Nomura, M. (1993) *Exp. Neurol.* 119, 235-239.
- [71] Rothwell, N.J. (1993) *Int. J. Obes.* 17, S98-S101.
- [72] Dascombe, M.J., Hardwick, A., Lefevre, R.A. and Rothwell, N.J. (1989) *Int. J. Obes.* 13, 367-373.

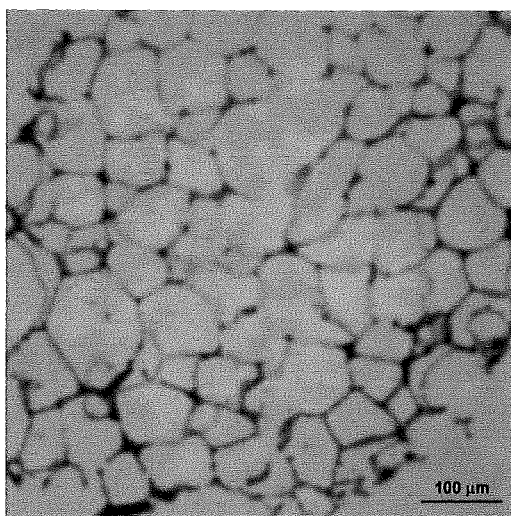
**LÁMINA I**



Tejido adiposo abdominal subcutáneo de una mujer con obesidad severa



Tejido adiposo abdominal subcutáneo de una mujer con obesidad moderada



Tejido adiposo abdominal subcutáneo de una mujer normopeso