

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL



LEPTINA EN NUTRICIÓN Y REPRODUCCIÓN

POR:

JAVIER RODRÍGUEZ REYES

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

BUENA VISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO.

MARZO DEL 2007

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL**

LEPTINA EN NUTRICIÓN Y REPRODUCCIÓN

Por:

Javier Rodríguez Reyes

MONOGRAFÍA

**Que se somete a consideración del H. Jurado examinador como
Requisito parcial para obtener el título de:**

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Aprobada

Presidente del jurado

Dr. J. Eduardo García Martínez

Sinodal

Sinodal

M.C. Camelia Cruz Rodríguez

Ph. D. Jesús M. Fuentes Rodríguez

Suplente

M.C. Gilberto Gloria Hernández

Coordinador de la División de Ciencia Animal

Ing. Rodolfo Peña Oranday

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

DEDICATORIA:

A DIOS primeramente por darme la vida, además de una familia maravillosa y unos amigos excepcionales.

A mis Padres:

Francisco Javier Rodríguez Torres:

Gracias Papá por ser mi ejemplo a seguir, por preocuparte siempre por que a mis hermanos y a mí nunca nos falte nada, por darme la confianza necesaria para llegar hasta donde estoy, por dejarme hacer lo que me gusta, por enseñarme tantas cosas y así formar mi carácter, TE AMO PAPÁ.

Baruch Reyes Valdés:

Gracias Mamá por ser la persona más buena y pura que pueda existir para mí, me has cuidado por siempre y te has preocupado para que nunca me falte nada, además has ayudado a formar mi carácter, me has enseñado a levantarme siempre que caiga y a seguir adelante, gracias por enseñarme tanto, te estaré infinitamente agradecido, gracias por ser mi Mamá, TE AMO MA.

Gracias a los dos por darme el regalo más grande; “la vida”, además también porque siempre me han brindado todo su apoyo, amor y confianza para ser alguien en la vida y seguir adelante para ayudarme a concluir mi carrera.

A mis Abuelos:

Sr. F. Rodolfo Rodríguez Flores:

A ti, mi mayor ejemplo de Fortaleza, Perseverancia, Respeto y Amor hacia el prójimo y las Mujeres, gracias por ser la base de la familia y hacer que funcione como tal, por hacerme un Hombre de buenos principios y valores, tal vez no con palabras pero yo lo he sabido entender con hechos, quiero que sepas que para mí eres un sabio de la vida y el más trabajador, me has enseñado tanto y eso nunca te lo podré pagar, gracias por ser mi Abuelo y por ser como eres, TE AMO.

Sra. María A. Torres Cortés (†):

Me hubiera encantado que estuvieras en este momento de mi vida mi Mariquita hermosa, créeme que te extraño tanto y sé que estarías muy orgullosa de mi por lo que soy, gracias por enseñarme tanto en mi niñez, por tus regaños, por consentirme, por preocuparte por toda la familia y siempre mantenerla unida, a pesar de que ya no estás físicamente con nosotros, siempre estarás con cada uno de nosotros, eso lo sabemos, gracias por ser mi Abue, TE AMO MI MARIQUITA.

Sra. Estela A. Valdés Valdés:

Gracias a ti, mi mujercita hermosa por estar ahí cuando te he necesitado, por consentirme, hasta por tus regaños bien merecidos y por preocuparte por mí y haberme cuidado tantas y tantas veces, gracias por ser como eres, TE AMO ABUE.

Sr. Diego Reyes Ochoa (†):

Ya que tú eres parte del resultado de que yo exista, me hubiera gustado conocerte y que hubieras estado presente en este logro en mi vida.

A mis Hermanos:

Efraín, Daniel y David; gracias por ser como son y darme su confianza, espero ser un buen ejemplo para su futuro, échenle ganas, luchen por todo lo que se propongan y lógrenlo, estoy orgulloso de ustedes, y he aprendido tanto de cada uno de ustedes, sigan adelante tan bien como hasta ahora, LOS AMO.

A toda mi familia:

A las Familias Rodríguez y Reyes ya que son parte de toda mi vida y de alguna u otra forma me han apoyado siempre y creído en mí.

A mis Primos:

Vicente (Vispa), Adán, Beto, Aide, Cindy, Arturo, Gustavo, gracias por tanto afecto de su parte y por aceptarme tal como soy, además de darme consejos tan valiosos que me han llevado a conocer tantas cosas en la vida, y a los más chiquillos; Rodolfo, Diego, Iván, Anahí, Barbara, Brenda, Andrea, Ale, Pamela, Alan, por su cariño y afecto.

AGRADECIMIENTOS:

A DIOS:

Por darme una familia, por dejarme llegar hasta donde estoy, por darme una segunda oportunidad después de mi reciente accidente y con ello hacerme pensar lo valioso que es la vida y que siempre habrá alguien que me estará esperando, por darme tanto amor, gracias DIOS.

A mi "ALMA TERRA MATER":

Por haberme brindado todas la enseñanza necesaria para poder concluir mi carrera, por todo los momentos en tus aulas, sus instalaciones deportivas y su comedor, además gracias un agradecimiento especial al Sr. Don Antonio Narro (†), por su acto de humanidad al haber fundado ésta Universidad.

Al Dr. J. Eduardo García Martínez:

Por toda su enseñanza y aportación para la conclusión del presente trabajo, además de su amistad y grandísimo apoyo desinteresado.

A M.C. Camelia Cruz Rodríguez:

Por su participación y colaboración desinteresada en el presente trabajo.

Al M.C. Gilberto Gloria Hernández:

Por su amistad brindada desde el comienzo de mi carrera, por estar ahí cuando lo hemos necesitado y por sus valiosos conocimientos que nos ha proporcionado.

Al Ph. D. Jesús M. Fuentes Rodríguez:

Por toda su enseñanza, amistad, consejos y desinteresada colaboración en el presente trabajo.

Al Departamento de Producción Animal:

Gracias por su valiosa enseñanza y amistad desinteresada.

A mis compañeros de la Generación CII de Zootecnia:

Chava, Mundo, Sebas, Chiva, Alain, Richard, Fidel, Elena, Toño, Alermo, Samuel, Leocadio, Cussy (Cutberto), Durán, Kiko (Edgar), Lupe, Fredy, Oaxito (Luis), Moreno (Edgar), Nesty (Nestor), Adrian, Juan Pablo, David, Gilberto, Bemfor, Armando, Zaid, Nadia, Oseas, Monclova (J. Carlos), Leonel, Poli, Daniel, Javier L., Crilin, Grajales, Elvia, Mario, Faustino, Jesús y Paúl, a echarle ganas “BUITRES”.

A otros amigos y amistades:

A mi banda de Tlaxcala; principalmente Vispa, el pareja (Robert), Noé (Vato), Leo, Barney, Zak, René, Charal, Emilio, al equipo Cariocas, al Dvo. Sn. Marcos y a la demás banda de Sn. Marquitos, a la tribu García; Diana, Arge, Jazmín y Pamela, a Elvia, Lore, Gladys, Mahetzi, Haideni, Marina, Arturo (Chino), a la banda de Hgo.; Coyote, Aldana, Chiapitas, Chon, Layo, Sebas, Kiko, y a los jóvenes, a la Fam. de Tío Lolo, a la Fam. García (Tlax.), a la Fam. García (Acuña), a la Fam. Zavala, a Gabriel y Lalo Tmps. (Ludovikeishon) que pasamos la mas terrible experiencia de nuestras vidas, y a todas las amistades que me faltan pero que saben que valoro su amistad, gracias por hacer más fácil el camino de la vida y por brindarme su desinteresada amistad y confianza, espero seguir contando con ustedes.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	v
ÍNDICE GENERAL.....	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	1
Leptina.....	1
Concepción inicial del papel fisiológico del gene ob productor de leptina.....	2
Acción de la leptina y el “genotipo ahorrativo”: Una perspectiva evolutiva.....	4
Leptina como señal de hambre: la conexión neuroendocrina.....	8
Leptina y la respuesta metabólica al hambre.....	11
Acciones endocrinas de la leptina independientes del hambre o la alimentación <i>per se</i>	12
Acción de la leptina en otros sistemas y órganos.....	15
Relación testosterona leptina en jóvenes durante la pubertad.....	15
Nuevo papel de la Leptina: Control de la masa ósea por un mecanismo Inhibidor Central.....	17
Evolución de talla, peso y leptina después del trasplante de médula ósea.....	19
Grelina y leptina: su relación con el crecimiento y la nutrición.....	21
Leptina y ejercicio.....	23
Regulación nutricional y del desarrollo de la leptina plasmática en ganado Lechero.....	27
BIBLIOGRAFÍA.....	29

INTRODUCCIÓN

La identificación del gene ob (Zhang et al. 1994) y el descubrimiento que su proteína codificada, leptina, es una hormona adiposito-derivada esencial para la regulación normal del peso corporal (Halaas et al., 1995; Campfield et al., 1995, Pellymouner et al., 1995) han alterado permanentemente el campo de la fisiología metabólica. En tan solo un periodo de tres años, más de 1000 trabajos sobre leptina se han publicado, creando y cambiando substancialmente el conocimiento. Como ocurre a menudo, sin embargo, el concepto inicial del papel fisiológico de una proteína nuevamente descubierta requiere la revisión a la luz de la información que emerge.

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo es dar a conocer información relativamente actual desde el descubrimiento de esta hormona hasta parte de su funcionamiento, y así mismo que nos ayude a entender diversas de sus acciones fisiológicas, así como también la correlación que existe entre esta hormona y otros factores, además de la relación con la que esta ligada con el crecimiento y la nutrición en los animales.

REVISIÓN DE LITERATURA

LEPTINA

Esta palabra deriva del griego *leptos* que significa delgado. La leptina es una hormona de muy reciente descubrimiento (1994) que trabaja a nivel del sistema mensajero y que requiere de un receptor en nuestro cerebro y se encarga de regular el peso de nuestro cuerpo.

Trabajando en ratas y ratones se identificó un gene responsable de la obesidad (gene ob) y que además de esto todos los portadores de este gene tenían un "peptido" conocido como aminoácido 167 que posteriormente fue bautizado como leptina.

Los estudios continuaron en humanos y se demostró que la leptina tiene participación activa e induce la baja de peso. Igualmente se demostró una estrecha correlación entre la leptina, el peso y la grasa corporal. Esto lleva a pensar que la leptina esta regulada por el balance energético de nuestro cuerpo más que por comer muchísimo o por ayunar.

Los niveles de leptina y la grasa del cuerpo tienen una enorme correlación. Otros factores (el sexo, la variación diurna y la concentración de insulina en el suero) presentan una correlación en menor grado.

En el obeso se encontró que existe un defecto en el receptor de la leptina en el cerebro y por eso los transportadores de leptina se saturan y no pueden llevar la leptina al cerebro mandando una señal a nuestro cuerpo de exceso de leptina circulante y eso favorece aun más la obesidad. Se le ha llamado el síndrome de resistencia a la leptina.

Las concentraciones de leptina en el líquido cerebroespinal se encuentran elevadas en los pacientes con exceso de grasa corporal pero generalmente es mas baja que las concentraciones del suero. La proporción de leptina en el líquido cerebroespinal a las concentraciones de leptina de suero también parece ser más bajo en los obesos.

En estos momentos la leptina sigue en estudio y solo se puede dar en forma inyectada, ya que es un péptido y si se da por vía oral se descompondría por las enzimas del aparato digestivo.

CONCEPCIÓN INICIAL DEL PAPEL FISIOLÓGICO DEL GENE OB PRODUCTOR DE LEPTINA

La identificación del gene ob a través de la clonación posicional (Zhang et al., 1994) y el descubrimiento que su producto codificado es una hormona circulante que es deficiente en el ratón ob/ob (Halaas et al., 1995; Campfield et al., 1995; Pellymounter et al., 1995) da lugar a que la leptina sea considerada una "hormona adipostática". Es decir, el papel fisiológico de la leptina fue considerado ascendente con el aumento de adiposidad, para generar una señal que fomente los límites de aumento del peso.

Esta visión, repetida a través de la literatura acerca de la leptina, tiene mucho para recomendarla. Primero, suena bien el hecho de que la deficiencia total de leptina, aunque es muy rara, causa obesidad severa en roedores (Zhang et al., 1994) y hombre (Montague et al., 1997); y en el roedor (hasta ahora), la obesidad como resultado de la mutación en el gene de la leptina es invertida por el reemplazo con leptina recombinante. De hecho, la visión de que la función de la leptina es resistir a la obesidad y promover flaqueza condujo a la opción de su nombre "leptina" (Halaas et al., 1995) del griego *leptos*, que significa delgado. En segundo lugar, este punto de vista de la leptina concuerda bien con la postulación, basada en evidencia indirecta substancial, de un sistema adipostático para el control del peso (Weigle, 1994).

Un mecanismo adipostático fue propuesto para explicar la estabilidad relativa del peso en un cierto plazo en muchos animales y de su capacidad de responder a la sobrealimentación involuntaria con las adaptaciones, incluyendo apetito reducido y aumento termogénico, que restauran el peso corporal y la composición a los niveles anteriores. Según esta visión, niveles altos de leptina dan la señal al cerebro (y posiblemente a otros sitios) que un exceso de energía se está almacenando (en forma de grasa), y esta señal causa las adaptaciones que resisten a la obesidad. Cuando esta señal es deficiente, el cerebro percibe un almacén escaso de energía, y la respuesta fisiológica es aumentar el apetito y disminuir gastos energéticos, buscando el balance energético.

Esta visión inicial, que la leptina funciona sobre todo como una hormona en contra de la obesidad, requiere de una buena revisión estimulada por nuevos datos y por consideraciones teóricas. Los nuevos datos incluyen la demostración que la leptina tiene efectos biológicos numerosos distintos de los esperados de una hormona adipostática contra-obesidad, y el hecho de que la resistencia a la acción de la leptina ha sido observada tanto en animales (Frederich et al., 1995; Maffei et al., 1995; Van Heek et al., 1997) como en el hombre (Maffei et al., 1995; Considine et al., 1995). A nivel teórico, parece probablemente que un potente sistema adipostático contra-obesidad estaría conforme a la selección genética negativa durante el curso de evolución.

ACCIÓN DE LA LEPTINA Y EL “GENOTIPO AHORRATIVO”: UNA PERSPECTIVA EVOLUTIVA

Con la evolución, como muchas cosas del mundo actual, es casi cierto que crónicamente la disponibilidad de energía ha sido inadecuada e intermitente para los organismos terrestres por períodos como cazador-recolector, por ejemplo, sugiere período inadecuado consumo de alimento puntualizado de acuerdo a la generosidad de la matanza. En tal ambiente, podemos presumir que la fuerte presión evolutiva seleccionaría para los rasgos que promueven dos respuestas adaptantes. El primero promovería el almacenaje eficiente de la energía cuando el alimento estaba disponible. Esto realizaría supervivencia aumentando almacenes de la energía durante periodos del alimento escaso. Tales rasgos se han referido previamente como constituir un genotipo ahorrativo (Neel, 1962). Un rasgo relacionado, pero distinto, que también conferiría ventaja de la supervivencia produciría adaptaciones fisiológicas durante periodos del producto escaso de la energía. Estos cambios promoverían supervivencia reduciendo gastos energéticos, asegurando flujos del substrato a los tejidos finos tales como cerebro que requieren energía en tasas constantes y aumentando el comportamiento que busca del alimento.

El concepto de un genotipo ahorrativo fue primeramente introducido por Neel (1962), 32 años antes del descubrimiento de la leptina. En su concepto original, él propuso que un “disparador rápido de la insulina” promovería el almacenaje creciente de la energía cuando el alimento estaba disponible, favoreciendo la supervivencia durante el periodo del cazador-recolector. Él presumió más lejos que este patrón de la secreción de la insulina, engendraría la resistencia de insulina, que entonces promovería la diabetes cuando los suministros de alimentos estaban abundantes y continuamente disponibles. Es este aspecto del concepto ahorrativo del genotipo que ha recibido la atención más grande. Aunque varios aspectos de este esquema no han probado ser correctos, la oferta de que las capacidades genéticas que son favorables durante la existencia del cazador-recolector pueden ser perjudiciales bajo condiciones de abundancia. Wendorf y Goldfine (1991) propusieron una revisión de la hipótesis del genotipo ahorrativo, en donde propusieron que la manifestación fenotípica dominante para ser mas resistente a la insulina que a la glucosa en músculo esquelético. Presumieron que la ventaja de la resistencia de insulina en músculo sería limitar hipoglucemia durante periodos de hambre (limitando el uso de la glucosa del músculo), pero que este mismo fenotipo promovería hiperglicemia y

almacenaje de la energía en forma de grasa guante periodos de abundancia alimenticia. Este papel amplió el concepto del genotipo ahorrativo al hambre así como a la alimentación y es atractivo por dos razones. Primero, la resistencia a la insulina más que a la glucosa en músculo y el almacenaje como glicógeno es un factor de riesgo para el tipo diabetes II (Rothman et al., 1995), y en segundo lugar, los ratones transgénicos con resistencia a la insulina músculo-selectiva son susceptibles a la obesidad cuando están expuestos a una dieta alta en grasas (Moller et al., 1996).

Es necesario ahora poner al día el concepto del genotipo ahorrativo, relacionándolo con la biología emergente de la leptina. Está claro que un genotipo ahorrativo (y el fenotipo) que promueve almacenaje de la energía en respuesta a la alimentación opone la función de una molécula tal como leptina que limita el almacenaje de la energía en forma de grasa. Por otro lado, un papel efectivo de la leptina como hormona adipostática derribaría la teoría del genotipo ahorrativo y sería predicha una reducción de la supervivencia cuando el alimento fuera escaso. Es probable, por lo tanto, que un papel de la leptina como potente señal en contra de la obesidad sería seleccionado en contra de las condiciones ambientales inferior. En respuesta a este análisis, puede ser sugerido que resultaría un genotipo ahorrativo cuando la leptina era ineficaz o parcialmente deshabilitada. Estos ajustes con la observación de que sobreviven los ratones de tipo silvestre +/+ (Coleman, 1978; Coleman, 1979), aunque es verdad, es inverosímil que la leptina se haya desarrollado con el fin de ser deshabilitada o ineficaz. Por lo tanto debemos considerar la pregunta: ¿para que propósito fisiológico se desarrolló realmente la leptina?

Los niveles de leptina en la sangre caen cuando la producción de energía es limitada y los almacenes de ésta en grasa están disminuyendo (Frederich et al., 1995b; Boden et al., 1996). ¿Pudo la leptina haberse desarrollado para señalar el cambio entre los almacenes suficientes y escasos de la energía? Si la leptina desciende señalará al cerebro para iniciar las respuestas que reducirían el riesgo del hambre y de la muerte, esto sería seguramente un papel fisiológico importante. El hambre evoca un número de respuestas, incluyendo la reducción en fertilidad, la suspensión de los niveles en la tasa metabólica y los niveles de la hormona tiroides, y la activación del eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal (Schwartz et al., 1995), cada uno del cual tiene valor en la supervivencia. Porque la leptina descendente se liga experimentalmente a cada una de

estas adaptaciones (Ahima et al., 1996), por lo menos en roedores, esta acción de la leptina es probablemente un componente dominante de su fisiología. El mismo mecanismo celular (como sea) que causa que la leptina pueda bajar la energía por escaso consumo o almacenaje pudo levantar niveles de la leptina con sobrealimentación y obesidad. Sin embargo, una ventaja de la supervivencia pudo acrecentarse a esos individuos que tenían una respuesta limitada a esta parte de la curva de la reacción a cierta dosis de leptina, manifestando de tal modo el genotipo ahorrativo.

Dos puntos importantes emergen de este paradigma. Primero, esta visión no es contraria con el hecho de que la obesidad severa resulta de las mutaciones que inhabilitan la leptina o su receptor. Con deficiencia continua de la leptina, el cerebro “percibe” el hambre y promueve hiperfagia y metabolismo eficiente a pesar de los almacenes adecuados de la energía que progresan a la obesidad. De hecho, se esperaba que cualquier defecto que cree tal señal del hambre en medio de la abundancia, tal como defectos en producir la leptina, entregando leptina a su sitio de acción, o el responder a la señal de la leptina, promoviera obesidad. Este hecho importante no implica, sin embargo, que la función fisiológica de la leptina es evitar que la obesidad. En segundo lugar, está claro que existe una relación genotipo/fenotipo que es adaptante cuando la toma de comida es intermitente (Ej. Una respuesta fisiológica limitada al incremento de leptina que realza la capacidad para el almacenaje de la energía) puede ser por mala adaptación al medio en la abundancia calórica continua promoviendo obesidad y sus complicaciones. Esto subraya un principio importante de la genética: que una relación genotipo/fenotipo particular no se puede ver siempre, por sí mismo, como adaptante o mal adaptado, sin la información sobre las condiciones ambientales a las cuales exponen al individuo afectado.

Para resumir esta perspectiva evolutiva: la capacidad de la leptina para descender durante el hambre para promover el incremento en el consumo de energía, la disminución del gasto energético y de promover la transformación de la energía a grasa, sugiere que la leptina desempeña un papel importante en defender el fenotipo ahorrativo disminuyendo con el hambre. Aunque la transición de este estado de hambre bajo en leptina a un estado de alimentación con restauración de leptina es probablemente importante para la salud fisiológica, una subida continua de la acción de la leptina como ingresos del almacenaje de la energía. Así pues se presume que, en un ambiente con los periodos del hambre puntualizados por alimentación, la evolución favorecería una curva

de la reacción a cierta dosis de leptina que funcionó energéticamente como un interruptor entre un cierto nivel del suficiente almacenaje de la energía y otro nivel percibido como escaso (Ej. Entre la alimentación y los ayunos) pero que no pudo limitar al almacenaje adicional de la energía mientras que los niveles se levantaron con incremento en el almacenaje de energía. El último estado sería descrito muy probablemente como “resistencia de la leptina”.

Es importante señalar que este análisis no desatiende la evidencia experimental que apoya una capacidad de animales de responder a la sobrealimentación aumentando la termogénesis (es decir metabolismo ineficaz) y disminuyendo la alimentación espontánea (Weigle, 1994). De hecho, la acción creciente de la leptina se satisface perfectamente para traer estas adaptaciones alrededor, porque la leptina puede disminuir la alimentación (Halaas et al., 1995, Campfield et al., 1995, Pellymounter et al., 1995) y producción de calor por aumento de la termogénesis que se activa en el tejido adiposo (Collins et al., 1996), y posiblemente otros sitios, con la inducción de recientemente identificadas proteínas mitocondriales desacopladas UCP-2 (Fleury et al., 1997, Gimeno et al., 1997) y UCP-3 (Boss et al., 1997, Solanes et al., 1997, Gong et al., 1997).

Podemos reformular la pregunta como sigue: la leptina tiene la capacidad de servir como señal que prevenga obesidad cuando los animales se sujetan a los suministros de alimentos abundantes, pero si o no, esta capacidad observada depende de la forma de la curva como respuesta biológica a cierta dosis de leptina. Si las consecuencias adversas de la obesidad fueran más deletéreas que la inhabilidad de maximizar almacenes de la energía, la evolución seleccionaría para la capacidad de responder energéticamente a la leptina y, así evitaría la resistencia de la leptina. Las variaciones entre las tensiones de los animales o los miembros individuales de una especie en vista de este parámetro tendrían implicaciones importantes para su susceptibilidad a la obesidad.

Asimismo, las variaciones en la inclinación de la curva que describe la relación entre la secreción y los niveles de leptina y la relación entre el tamaño y almacén de grasa de los adipositos influenciarían la masa de grasa corporal obtenida.

LEPTINA COMO SEÑAL DE HAMBRE: LA CONEXIÓN NEUROENDOCRINA

Porque el hambre es una amenaza recurrente a la supervivencia, numerosos sistemas fisiológicos se han transformado para defenderse contra éste. Entre las respuestas más importantes al hambre están los cambios en la conducta, incluyendo un comportamiento de ansiedad por buscar comida; cambios metabólicos, incluyendo los que promueven la disposición de la energía a los tejidos a través de un interruptor de los carbohidratos al metabolismo de las grasas (Chipkin et al., 1994); y reducción en la tasa metabólica, que junto con el tamaño inicial del pool de almacenaje de la energía, se espera que desempeñe un papel dominante en la determinación de la duración total de la supervivencia. ¿Una sola señal arrastra y orchestra estas respuestas complejas? La insulina, la hormona más crítica de la homeostasis metabólica, cae con el ayuno y se levanta con la alimentación y tiene acciones diversas a través de esta gama entera de la reacción a cierta dosis. La caída de la insulina con el hambre es crítica para el interruptor metabólico de los carbohidratos al metabolismo de las grasas, con acciones en procesos bioquímicos numerosos en órganos incluyendo grasa, músculo, e hígado (Chipkin et al., 1994). Grandes esfuerzos han llevado a realizar estudios que apuntan a determinar si la insulina tiene acciones adicionales para inducir el apetito, gastos energéticos, y el estado neuroendocrino en respuesta a una súper o sub nutrición. Porque la insulina se puede transportar al parecer a través de la sangre al cerebro (Baura et al., 1993) y, cuando está inyectado centralmente, puede reducir apetito y la expresión del neuropéptido hipotalámico Y (Schwartz et al., 1994), un papel de la insulina en la regulación central del balance energético se ha propuesto. Tomando en su totalidad, sin embargo, estas observaciones sobre la insulina, aunque son provocativas y lógicas, han dejado a la mayoría de los investigadores que creían que una o más señales adicionales que ligan los sitios del control de la periferia y de la central tienen todavía que ser descubiertas.

Es claro que la leptina es una molécula. Primero, fue demostrado que los niveles de leptina bajan rápidamente (es decir dentro de horas) con la privación de la energía en los roedores (Frederich et al., 1995b; Boden et al., 1996). Esto sugiere que, además de ser una lectura de los almacenes de la energía, el nivel de la leptina sea un sensor del balance energético o de la relación del producto de la energía al gasto en un punto en el tiempo. Después, una estrategia clásica de reemplazo fue empleada para demostrar que los cambios inducidos por el hambre en estado neuroendocrino fueron embotados o

prevenidos enteramente cuando un animal hambriento era repleto con leptina. Así, la activación del eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal (HPA), y de la supresión de la tiroides y de los ejes reproductivos, fueron embotadas o prevenidas por la repleción de la leptina durante el hambre en roedores, estableciendo que estos efectos estén señalados, por lo menos en parte, por la caída en la leptina (Ahima et al., 1996).

¿Cuáles son las consecuencias de este acarreo de leptina en la respuesta endocrina? El producto más crítico del eje HPA es la hormona glucocorticoide, corticosterona en el roedor y cortisol en hombre. Por lo menos dos de muchas funciones benéficas de la secreción glucocorticoide creciente en el hambre pueden ser citados. Primero, los glucocorticoides ganaron su nombre de su capacidad de promover el cambio a la gluconeogénesis hepática que es necesaria para proveer al cerebro de glucosa cuando las fuentes exógenas de la nutrición son limitadas. Logran esto por los numerosos mecanismos incluyendo el estímulo de proteólisis en músculo y la activación de enzimas de la gluconeogénesis en el hígado. En segundo lugar, como el hambre es una época de estrés que está asociada más probablemente con desafío y lucha físicos, las acciones de los glucocorticoides que se relacionan con la respuesta de la tensión serían ventajosas. La caída en leptina es el primer mecanismo definido para explicar la activación del eje HPA en respuesta al hambre.

En igualdad de circunstancias, se espera que el hambre produzca la muerte más rápidamente cuando la tasa metabólica es más alta. Porque la hormona tiroides es un regulador dominante de la tasa metabólica básica, una caída en dicha hormona durante el hambre es probable ser ventajosa, siempre y cuando no ocurren otras consecuencias potencialmente adversas del hipotiroidismo. La tasa metabólica baja durante la restricción del alimento, al igual que los niveles del T3 en seres humanos (Spencer et al., 1983) y T4 y T3 en los roedores (Ahima et al., 1996), pero la contribución de los niveles disminuidos de la hormona tiroides en producir el hipometabolismo del hambre no se ha establecido. El hambre puede bajar tasa metabólica bajando niveles de la hormona tiroides, pero los mecanismos pueden también existir aparte de los efectos de disminuir niveles del T3 y de T4. éstos incluyen cambios en la masa corporal magra, reducción en la actividad del tejido adiposo (Himms, 1990), y cambios posiblemente en la expresión o la función de nuevas proteínas desacoplantes.

Es significativo que los cambios en cada uno de estos parámetros (Ej. Masa corporal magra, actividad del tejido adiposo, y expresión de UCP-3) se han divulgado para responder a los niveles cambiantes de la leptina. Así, la leptina es capaz de regular la tasa metabólica en el hambre por varios mecanismos, incluyendo cambios en el eje de la tiroides (Ahima et al., 1996, 1997; Legradi et al., 1997). Interacciones entre estos mecanismos pueden también existir. Así, la hormona tiroides aumenta la expresión de UCP-3 en el músculo esquelético de la rata (Gong et al., 1997), y es posible que algo o toda la acción de la leptina para inducir UCP-3, sea secundaria a los efectos de la leptina para inducir niveles de la hormona tiroides.

Una importante conexión entre la nutrición y la reproducción se ha observado. El desarrollo de la progenie viva y sana requiere una asignación grande de calorías, y comprometería la madre y el feto si el proceso comenzó con las calorías escasas almacenadas en forma de grasa. Ésta es la probable explicación tecnológica para explicar la capacidad de privación calórica para prevenir la maduración sexual completa y limitar con ello la capacidad reproductiva en hembras sexualmente maduras. Está, menos clara que ventajosa, deriva del eje reproductivo que es disminuido en varones hambrientos, pero éste está muy bien descrito y puede ocurrir (Ahima et al., 1996).

¿Cómo la leptina influencia estos diversos efectos endocrinos del hambre? La leptina ejerce muy probablemente sus efectos más importantes a través del sistema nervioso central, específicamente dentro del hipotálamo. Todavía no se establece a través de que trazado de circuito de los nervios se causan estos efectos. Una teoría inicial contempló al NPY hipotalámico como blanco dominante (Stephens et al., 1995).

El NPY que contienen las células en el núcleo arqueado tienen receptores de leptina (Mercer et al., 1996), y la leptina suprime la expresión de NPY en este sitio (Stephens et al., 1995; Schwartz et al., 1996). La administración de NPY puede activar el eje HPA (Liu et al., 1994) y puede también ejercer una variedad de efectos sobre el eje hipotalámico-pituitario-gonadal (Kalra, 1997). Sin embargo, los efectos del hambre para activar el eje HPA, para suprimir la reproducción, y para activar el eje completo de la tiroides ocurren normalmente en ratones con el golpe de gracia del gene de NPY (Erickson et al., 1996, 1997), indicando que otros, tales como factores hipotalámicos hasta ahora no identificados deben estar implicados. Con respecto al eje de la tiroides, hemos observado

que el hambre causa la supresión de la expresión de la expresión de TRH en el núcleo paraventricular del hipotálamo en la rata, a pesar de niveles que caen de T4, que debe aumentar TRH, y que el tratamiento de la leptina durante el hambre previene esta supresión (Legradi et al., 1997). Si este efecto es una acción directa de la leptina en las neuronas de TRH o es mediado por una proyección indirecta de las neuronas responsables de la leptina es actualmente desconocido. Debe considerarse que la leptina también se ha descrito para tener acciones directas sobre órganos periféricos tales como el pituitario (Yu et al., 1997), las glándulas suprarrenales (Bornstein et al., 1997), y las gónadas (Zachow y Magoffin, 1997), y el papel posible de estas acciones aguardará el estudio adicional.

LEPTINA Y LA RESPUESTA METABÓLICA AL HAMBRE

Aunque un papel descendente de la leptina en cuanto a la respuesta endocrina al hambre parece claro, todavía no se establece a qué grado la leptina desempeña un papel en la adaptación metabólica al hambre, una situación donde está el cambio hormonal a la decadencia de insulina dominante. La decadencia de insulina se piensa puede ser el factor principal que causa lipólisis creciente, la disminución de glucosa en músculo y la producción hepática de grasa, y el incremento de la glucosa, que caracterizan el hambre. El decremento de insulina puede también desempeñar un papel directo e importante en la caída en la producción de la leptina por el adiposito durante el hambre, mientras que la insulina se ha observado puede estimular la expresión del gene de leptina *in vitro* (MacDougald et al., 1995; Saladin et al., 1995; Rentsch y Chiesi, 1996), y la subida de los niveles de leptina *in vivo* durante una euglicemia prolongada de insulina (Boden et al., 1997). Sin embargo, no está todavía claro a qué grado la decadencia de la leptina pudo contribuir, junto con la decadencia de insulina, a las adaptaciones metabólicas al hambre. La repleción de la leptina solamente en el ratón muerto de hambre no pudo prevenir la subida de cetonas o la caída en los niveles de la glucosa (Ahima et al., 1996), sugiriendo que la insulina sea la hormona primaria en esta adaptación, pero tales estudios necesitan ser ampliados para evaluar la posibilidad de efectos metabólicos más sutiles de la leptina que podrían ser importantes. Dado que la observación que se ha realizado considera que la leptina es capaz de ejercer efectos metabólicos potentes sobre los tejidos periféricos (Rossetti et al., 1997; Kamohara et al., 1997), por lo menos algunos de los cuales pueden

ser directos más bien que a través del cerebro (Siegrist et al., 1997), se requieren otros estudios en la fisiología metabólica de la leptina.

La interpretación de estudios en la fisiología metabólica de la leptina requerirá la integración de observaciones bioquímicas con el contexto fisiológico en el cual ocurren. Por ejemplo, durante el ayuno, cuando se activa la lipólisis, la insulina y los niveles bajo de leptina. La caída en insulina se liga claramente a este proceso. Porque la adición de leptina se describe como lipólisis que activa en tejido adiposo directamente (Siegrist et al., 1997), es confuso qué papel pudo desempeñar en la fisiología del hambre. ¿La caída de leptina durante acto de hambre como freno en la lipólisis contradice la acción de insulina? Los estudios dirigidos a resolver este tipo de preguntas serán requeridos para ver si existe un papel de la leptina en la adaptación metabólica al alimento y a los estados de ayuno y así poder entender estos procesos.

ACCIONES ENDOCRINAS DE LA LEPTINA INDEPENDIENTES DEL HAMBRE O LA ALIMENTACIÓN *per se*

Los efectos de la leptina en la función endocrina así como sus bajos niveles durante el hambre caben fácilmente dentro del paradigma de la leptina como molécula que indica la interrupción entre el desahogo y la escasez de los almacenes de la energía. Estos resultados han conducido, sin embargo, al descubrimiento de las acciones adicionales de la leptina en la función endocrina que se quitan más a fondo del paradigma del desahogo de la energía. El primer ejemplo se relaciona con el eje suprarrenal. Hay un ritmo diurno de los niveles de la leptina que es arrastrado durante la comida. En roedores, los niveles de la leptina se levantan durante la noche cuando los roedores normalmente comen (Ahima et al., 1996), en el hombre, los niveles se levantan a través del día y su pico es por la mañana temprano (Sinha et al., 1996). Las comidas individuales no se asocian a un nivel creciente de leptina en el hombre (Korbonits et al., 1997). Estos patrones diurnos de leptina son contrarios a los patrones típicos del eje HPA en roedores (Ahima et al., 1996) y el hombre (Korbonits et al., 1997). Las correlaciones no prueban conexiones casuales, y mucho se sabe sobre los mecanismos centrales para la regulación de ritmos circadianos, incluyendo la entrada crítica del núcleo supraquiasmático. Sin embargo, es razonable considerar si la leptina puede ser una de varias influencias sobre el patrón del ritmo diurno

del eje HPA. Un substrato anatómico para un camino posible por el cual las neuronas responsables de la leptina pudieron influenciar la salida del núcleo supraquiasmático descrito recientemente (Korbonits et al., 1997). La interacción posible entre la leptina y el eje HPA por lo tanto se extiende más lejos. Aparentemente la leptina tiene un patrón pulsátil aparte del ritmo diurno (Elmqvist et al., 1998). Dado que la leptina es secretada por las células adiposas extensamente dispersas las cuales tienen poca probabilidad de tener alguna coordinación. Dicha pulsatilidad se ve solamente cuando se toman las muestras frecuentes, y si el patrón resulta pulsátil en el nivel de la secreción o de la separación no se sabe. Interesante, este patrón se correlaciona inversamente con el patrón pulsátil de las hormonas adrenocorticotróficas y del cortisol (Elmqvist et al., 1998). Porque la inyección aguda de leptina *in vivo* puede suprimir la subida del eje HPA inducido por la tensión (Heiman et al., 1997), es razonable presumir que la leptina puede tener un papel importante en la función negativa normal de la regeneración del eje HPA. Tal relación explicaría el hecho de que los estados de la deficiencia o de la resistencia severa de leptina están asociados a la activación del eje HPA. También se ha sugerido que la leptina puede inhibir el eje HPA por una acción directa en la glándula suprarrenal para inhibir el cortisol (Bornstein et al., 1997). Así, la relación inversa entre la leptina y los glucocorticoides puede derivar de la acción en dos sitios en el eje HPA (Bornstein et al., 1997).

Por otra parte, se ha reportado que la leptina puede incrementar la expresión de CRH del RNA mensajero (mRNA) en el núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN) (Schwartz et al., 1996), y se presume que este camino pueda presentar un mecanismo para las acciones centrales de leptina (Schwartz y Seeley, 1997) dado que CRH administrado centralmente reduce la toma de comida (Levine y Billington, 1997) y aumenta la salida comprensiva al tejido adiposo (Rothwell, 1990, Egawa et al., 1990), dos acciones de la leptina. Estas observaciones dispares se pueden reconciliar, sin embargo. El PVN es un núcleo complejo, y las neuronas de CRH en el PVN tienen intensidades anatómicas y funcionales distintas (Sawchenko et al., 1993). Una población proyecta a la eminencia mediana, en donde CRH lanzado accede a la glándula pituitaria para regular la secreción de hormonas adrenocorticotróficas y, de tal modo, de glucocorticoides suprarrenales. Se cree que en esta población de células, la leptina es probablemente un inhibidor. Una segunda población de las neuronas de CRH en el PVN proyecta a otros sitios, incluyendo los centros preganglionicos autónomos en el cerebro. Es probable, aunque hasta ahora

no se ha probado, que la leptina activa estas neuronas. Tal modelo puede explicar los datos existentes en esta área.

Con respecto al eje de la tiroides, es de gran interés, ya que ese ritmo diurno de TSH se ha visto (Weeke y Gundersen, 1978; Kerr et al., 1987), con los niveles enarbolando sobre las horas tempranas de la mañana, cuando los niveles de leptina están en su más alto nivel. Dado la observación respecto a la acción de la leptina para estimular la expresión del gene de TRH en el hipotálamo durante el hambre (Legradi et al., 1997), es posible que la leptina se pueda implicar en este proceso.

El efecto de la leptina en el eje reproductivo puede también extenderse más allá del paradigma del hambre y de la alimentación. En ratones, la administración de leptina a partir de la época del destete acelera el inicio de la pubertad (Ahima et al., 1997; Chehab et al., 1997; Barash et al., 1996). En jóvenes, los niveles de leptina aparecen enarbolarse o antes del inicio de la época púberal cuando están estudiados en una manera longitudinal con los años peripuberales (Mantzoros et al., 1997). Estos resultados son constantes con la posibilidad que la leptina puede ser una de varias señales que actúa en el sistema de Ngr., directamente o indirectamente, de influenciar la sincronización del programa púberal. La naturaleza esencial de esta señal es demostrada por el hecho de que los ratones ob/ob sin leptina tienen problemas para experimentar el desarrollo púberal, un proceso que se restaura administrando la leptina (Chehab et al., 1996). Si la leptina actúa como puerta metabólica alcanzando un nivel necesario, o los picos para producir realmente una señal son actualmente sin resolver, pues un estudio de la pubertad en monos no reveló ningún aumento en niveles de leptina antes de la pubertad (Plant y Durrant, 1997). Es obvio que las observaciones respecto a la acción de leptina en el sistema endocrino en roedores requieren un estudio cuidadoso en primates y seres humanos. Las diferencias importantes entre la acción de la leptina entre estas especies pueden estar presentes.

En un estudio realizado en ratones, se intentó determinar si los niveles de leptina enarbolaban momentos antes de la pubertad en esta especie. Cuando midieron los niveles de leptina post-destete, no se encontró ningún pico. Entonces se midieron los niveles de leptina a partir del día 3 después del nacimiento al periodo de post-destete encontrado que los niveles de leptina experimentaron una oleada marcada entre los días 5 y 15,

enarbolando agudamente en el día 10. Esto fue asociado a una expresión creciente del mRNA de la leptina en tejido adiposo subcutáneo y no estaba relacionado a cualquier variación del tejido adiposo (como en uno por ciento del cuerpo se forma durante este periodo). Estos resultados levantan la posibilidad que la leptina desempeña un papel de desarrollo además de las funciones relacionadas con el balance energético y la función neuroendocrina. Al respecto, es importante observar que los cerebros de los ratones ob/ob y db/db pesan substancialmente menos que los magros, y estas diferencias aumentaban con la edad (Vannucci et al., 1997). La base mecánica para estas diferencias llamativas de tamaño del cerebro (y probablemente la función) causados por deficiencia de leptina es desconocida.

ACCIÓN DE LA LEPTINA EN OTROS SISTEMAS Y ÓRGANOS

Aún cuando esta a la vista del papel biológico de una molécula tal como la leptina, es necesario mencionar sus acciones en otros sistemas y órganos, aparte del sistema nervioso y su relación endocrina-metabólica. La leptina se ha estudiado en cuanto a su acción en las células hematopoeíticas (Umemoto et al., 1997) y por alterar la función renal (Haynes et al., 1997), efectos que podrían ser indirectos vía sistema nervioso simpático, o directo en las células renales. La razón por la que la leptina se debe haber seleccionado para ejercer estas acciones, además de otras inesperadas deberá ser descubierta en los siguientes años, ya que aun no es evidente.

RELACIÓN TESTOSTERONA LEPTINA, EN JÓVENES DURANTE LA PUBERTAD

Hay una relación inversa entre las concentraciones plasmáticas de testosterona y de leptina en jóvenes y en hombres. Esto se ha demostrado en el curso de la pubertad normal, en ciertas situaciones patológicas y tras un tratamiento prolongado con testosterona (Blum et al., 1997; García et al., 1997; Mantzoros et al., 1997).

En el curso de la pubertad normal, la leptina evaluada longitudinalmente en 8 jóvenes aumenta el 50% justo antes de la pubertad, vuelve a valores basales después del inicio de la pubertad, y luego permanece estable durante mas de 2 años (Mantzoros et al.,

1997). Esta disminución secundaria ocurre a pesar de un aumento del índice de masa corporal (IMC). García et al., 1997 demostraron que la leptina aumenta paralelamente al peso hasta la edad de 10 años, después disminuye entre 10 y 15 años, franja de edad durante la cual las gonadotropinas (FSH y LH) y la testosterona aumentan. Las concentraciones de leptina se correlacionan negativamente con estos tres parámetros.

Por otro lado Jockenhövel et al., 1997 realizaron un estudio en 22 hombres afectados de hipogonadismo y señalan que el tratamiento de larga duración con testosterona disminuyó los niveles de leptina. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de leptina, aunque fueron tres veces más elevadas que en los controles antes del tratamiento con testosterona, se normalizaron después del tratamiento.

Este mismo tratamiento fue administrado durante 12 meses a transexuales varones a hembras, provocando una disminución de su peso y su masa magra (Elbers et al., 1997). Sus concentraciones de leptina disminuyeron a la mitad después de 4 meses, antes de la disminución de su masa magra, y al 61% después de 12 meses. Al contrario, en jóvenes con una pubertad precoz, el frenaje de la secreción de testosterona con un análogo de GnRH se siguió de un aumento de leptina, mientras que la suspensión del tratamiento se siguió de una disminución (Palmert et al., 1998).

El mecanismo por el cual un aumento de la testosterona se sigue de una disminución de la leptina es desconocido. Parece ser independiente del aumento de las gonadotropinas. Dado que el aumento de la testosterona aumenta la secreción de GH, se plantea la cuestión del papel de la GH en la disminución de la leptina. Los pacientes con acromegalia tienen concentraciones de leptina inferiores a los controles (Miyakawa et al., 1998). Un tratamiento con GH disminuye la leptina en pacientes con un déficit de GH (Rauch et al., 1998), y en niños con una baja talla constitucional (Kristöm et al., 1998).

Los jóvenes con un retraso púberal simple tienen frecuentemente una disminución de su respuesta de GH a las pruebas de estimulación (Adan et al., 1994). La administración de corta duración de testosterona normaliza esta respuesta. Esta es una prueba diagnóstica para distinguir un déficit transitorio de GH debido a un retraso púberal, de un déficit permanente. Se ha utilizado esta prueba para evaluar el efecto del aumento de la secreción de GH sobre la concentración plasmática de leptina. Ésta se ha medido antes y

después de 10 días de 4 inyecciones intramusculares de 100mg de heptilato de testosterona con 15 días de intervalo, en 10 jóvenes de 14.8 ± 0.2 años, con un retraso púberal simple y un pico de GH inferior a 10 ng/ml (Adan et al., 1999). Todos han tenido un pico de GH y un desarrollo púberal espontáneo normal. Su leptina disminuyó de 5.4 ± 1.3 a 3.6 ± 1.1 ng/ml ($p < 0.01$) tras la administración de testosterona, y ello a pesar del aumento de peso de 3.4 ± 0.5 k. La leptina se correlaciona positivamente con el IMC antes ($p < 0.03$) y después ($p < 0.04$) de la testosterona, pero no con el pico de GH, ni con el factor de crecimiento IGF1 o su proteína transportadora dependiente de la GH (IGFBP-3). Las concentraciones de leptina y de insulina tras testosterona se correlacionan positivamente ($p < 0.04$). Así, una administración de corta duración de testosterona a jóvenes con un retraso púberal disminuye sus concentraciones plasmáticas de leptina. La ausencia de correlación con la secreción de GH o con sus modificaciones, a pesar del aumento mayor de la secreción de GH, y la ausencia de modificaciones significativas de la insulina son factores suplementarios que sugieren que la testosterona disminuye la concentración de leptina esencialmente por un efecto directo sobre el tejido adiposo.

NUEVO PAPEL DE LA LEPTINA: CONTROL DE LA MASA ÓSEA POR UN MECANISMO INHIBIDOR CENTRAL

La masa ósea resulta del equilibrio entre la formación ósea por los osteoblastos y por otra parte la reabsorción ósea por los osteoclastos. Hasta ahora, las pruebas experimentales situaban el control de la masa ósea principalmente a nivel local a través de mecanismos auto y paracrinos. Sin embargo, en un artículo reciente aparecido en Cell (100:197-207, 2000), autores alemanes y americanos aportan por primera vez una prueba indiscutible de un control central de la masa ósea por la leptina. Además demuestran que la vía de control ejercida sobre la masa ósea por la leptina es diferente de la ejercida sobre el peso.

Los ratones sin leptina activa tienen un aumento de la masa ósea. El hipogonadismo y la insuficiencia en esteroides sexuales que resulta de ello, así como el hipercortisolismo, son dos situaciones clínicas y experimentales que llevan a la osteoporosis. Los ratones ob/ob y db/db, unos deficientes en leptina por mutación del gen y los otros por mutación del receptor de leptina, se caracterizan por una obesidad, un hipogonadismo y un

hipercortisolismo. Lógicamente los autores suponen que la masa ósea debería estar disminuida en estos animales ya que la insuficiencia gonadal se asocia a un aumento del número de osteoclastos y por tanto de la reabsorción ósea, mientras que el exceso de cortisol inhibe los osteoblastos y por tanto la formación ósea.

Contrariamente a la lógica esperada, los autores demuestran que estos animales tienen los huesos largos y vértebras radiológicamente más densos que los controles. Histológicamente sus huesos poseen más trabéculas óseas y son más resistentes a las fracturas. Estas observaciones se encuentran en los dos sexos y no afectan al hueso cortical. El hecho de que el ratón db/db presente el mismo fenotipo que el ratón ob/ob sugiere que la leptina ejerce su acción a través de su propio receptor.

El aumento de la masa ósea es independiente de la obesidad. Los autores demuestran que no hay lazo de casualidad entre el aumento de la masa ósea y la obesidad. Con este fin estudian el tejido óseo ya en ratones obesos sin déficit de leptina como los ratones mutantes del gen *Agouti* o ratones hechos obesos por un régimen rico en grasas, ya en ratones deficientes en leptina sin obesidad asociada (ratones homocigotos ob/ob alimentados con un régimen pobre en grasas o heterocigotos ob/+). En tales ratones, contrariamente a los ratones ob/ob y db/db, los autores no encuentran aumento de la masa ósea, demostrando así que el efecto inhibitorio de la leptina sobre la información ósea es independiente de la obesidad.

El aumento de la masa ósea se explica por un estímulo de la formación ósea. Los autores demuestran además, que el aumento de la masa ósea es debido únicamente a un estímulo de la formación ósea, debido a un estímulo de la función de los osteoblastos y no de su proliferación o de su diferenciación. Por otra parte demuestran que la función de los osteoclastos, cuyo número está aumentado en estos animales hipogonádicos, es normal excluyendo así una reabsorción ósea defectuosa que daría cuenta de un aumento de la masa ósea.

La leptina no actúa directamente sobre los osteoblastos. La ausencia de ARNm para la leptina y de su receptor, tanto a nivel de los osteoblastos como el tejido óseo, hablan en contra de una acción auto o paracrina de la leptina. Igualmente los autores son incapaces de demostrar una activación de la vía de transducción de la leptina en cultivos primarios de

osteoblastos expuestos a concentraciones fisiológicas o suprafisiológicas de leptina. Por fin un tratamiento de larga duración con leptina no afecta para nada a la síntesis de colágeno o a la mineralización ósea de los osteoblastos de los ratones controles. El conjunto de estos argumentos habla en contra de una acción directa de la leptina a nivel del osteoblasto.

La leptina actúa por vía central sobre la masa ósea. La prueba de una acción central de la leptina es aportada directamente por la administración intra-ventricular (IVC) de leptina en ratones ob/ob ovariectomizados o controles. Esto lleva a una disminución de la masa ósea, lo que demuestra que la leptina actúa por vía central probablemente a través de su receptor hipotalámico. Esta vía es independiente de la vía que controla el peso corporal pues la administración IVC de neuropéptido Y (NPY) a ratones controles se asocia a una pérdida de masa ósea ya que el NPY antagoniza la acción de la leptina y debería en principio aumentarla. Esta observación sugiere que la leptina que la leptina controla la masa ósea por vías diferentes de las que controlan el peso corporal.

En conclusión, gracias a elegantes experimentos *ex in vivo* en el ratón, los autores aportan de manera indiscutible las pruebas experimentales de que el volumen de la masa ósea se controla centralmente por un mecanismo que implica a la leptina. Las vías mediáticas por las que la leptina ejerce su acción inhibitoria sobre el tejido óseo quedan por descubrir. Estas observaciones abren al menos un nuevo campo de aplicación para nuevos ensayos terapéuticos de la osteoporosis, que es una de las afecciones mas frecuentes en los países occidentales (Maes, 2000).

EVOLUCIÓN DE TALLA, PESO Y LEPTINA DESPUÉS DEL TRANSPLANTE DE MÉDULA ÓSEA

La talla baja es uno de los efectos secundarios del transplante de médula ósea (TMO). Puede deberse a la enfermedad inicial, a su tratamiento y a los tratamientos de preparación al TMO, particularmente la irradiación; así mismo pueden influir las complicaciones del TMO y/o los corticoides utilizados para tratar dichas complicaciones. La irradiación puede inducir una talla baja mediante dos mecanismos: 1) déficit de hormona de crecimiento (GH) por la irradiación de la región hipotálamo-hipofisaria en el

seno de una irradiación corporal total (ICT); y 2) la irradiación de los cartílagos de crecimiento, en el seno de una ICT o de una irradiación linfóide, puede causar lesiones óseas. Estas pueden ser responsables de una resistencia a IGF-I y de una mala respuesta al tratamiento con GH.

La disminución del IMC en algunos pacientes tras la ICT, el efecto de la evolución del IMC sobre la velocidad de crecimiento estatural y sobre la tasa de IGF-I, y la extrema talla baja adulta de algunos pacientes que han sido sometidos a ICT, ha llevado a evaluar los factores que influyen en la evolución de la talla y del IMC tras diferentes protocolos de TMO.

Han sido incluidos en este estudio cincuenta y cuatro pacientes (34 varones) sometidos a TMO, con edades menores de 10 años en las niñas y de 12 en los niños. Ninguno de ellos había recibido ningún tipo de irradiación local o craneal previamente al TMO. Todos se encuentran en remisión sin complicaciones y ninguno recibe tratamiento con corticoides a largo plazo. Otros 54 pacientes que cumplen los criterios, no han sido incluidos por presentar diversos factores que interfieren en el crecimiento (enfermedad inicial o complicaciones del TMO). Los 53 pacientes han sido clasificados según su propio protocolo de preparación al TMO: grupo 1 (n=22) ICT con 12 Gy en 6 sesiones, grupo 2 (n=14) ICT de 10 Gy en una sola dosis, grupo 3 (n=8) ICT de 6 Gy en una sola dosis y grupo 4 (n=9) solo quimioterapia.

En la primera evaluación, 12/16 pacientes de los grupos 1 y 2 (irradiados en la región hipotálamo-hipofisaria), tuvieron un pico de GH inferior a 10 ng/ml tras estímulo por arginina-insulina. Entre los 30 pacientes evaluados dos veces, los picos de GH en las dos evaluaciones son concordantes en 17 (normales en 11 y bajas en 6) y discordantes en 13. Las concentraciones medias de IGF-I, expresadas en forma de "z score", son similares en el grupo 1 (-2.9 ± 0.3) y grupo 2 (-2.5 ± 0.3) y en los grupos 3 (-1.4 ± 0.3) y grupo 4 (-1.4 ± 0.7); pero las del grupo 1 son inferiores a las del grupo 3 ($p < 0.01$) y grupo 4 ($p < 0.05$); y las del grupo 2 respecto a las del grupo 3 ($p < 0.05$). El IMC en los cinco años siguientes al TMO no cambia en los grupos 1 y 2, disminuye en el grupo 3 y aumenta en el grupo 4. Estas variaciones no se correlacionan con las variaciones de la talla. La mayoría de los pacientes que tuvieron una ICT tienen a los dos años (66%) y cinco años (57%) un IMC inferior a lo normal. Sus IMC y sus tasas plasmáticas de leptina se correlacionan

positivamente ($p=0.005$) y negativamente con su pico de GH ($p=0.02$ para el IMC y 0.007 para la leptina). Veintiséis pacientes tienen una cifra plasmática de TSH superior a lo normal y reciben un tratamiento sustitutivo con hormona tiroidea. Ocho pacientes (5 niñas y 3 niños) tienen un déficit no compensado con esteroides sexuales y reciben tratamiento sustitutivo con hormonas sexuales. Los criterios para tratar con GH han sido: pico de GH inferior a 10 ng/ml tras estimulación y pérdida estatural tras el TMO superior a una SD. Tres pacientes han sido tratados durante más de un año con dosis de 0.7 U/Kg/semana , seis días a la semana. Su velocidad de crecimiento en el primer año de tratamiento aumentó de 4.1 ± 0.4 a $6.1 \pm 0.5 \text{ cm}$ ($p=0.02$). Quince pacientes han alcanzado su talla adulta. Tres de ellos fueron tratados con GH. La talla adulta ($-1.2 \pm 0.2 \text{ SD}$) es inferior ($p<0.01$) a la talla en el momento del TMO ($-0.3 \pm 0.2 \text{ SD}$) y a la talla mediana genética ($0.2 \pm 0.2 \text{ SD}$). Este estudio sugiere que la ICT disminuye efectivamente la secreción de GH, que induce un IMC que permanece bajo y que interfiere con la secreción de la leptina. La correlación negativa entre el pico de GH y la concentración plasmática de leptina es probablemente debida al efecto inverso que ejerce sobre ellas el IMC, pero puede indicar asimismo que la GH y la leptina son marcadores del efecto hipotalámico-hipofisario de la ICT.

En conclusión dada la talla baja extrema adulta de algunos pacientes que han sido sometidos a ICT y la persistencia de un IMC inferior a lo normal en la mayoría de ellos, cinco años después, se sugiere que el tratamiento con GH en aquellos que presenten un déficit de GH y el soporte nutricional en aquellos que permanecen delgados, son métodos eficaces para mejorar su crecimiento (Couto, 2000).

GRELINA Y LEPTINA: SU RELACIÓN CON EL CRECIMIENTO Y LA NUTRICIÓN

En 1984 Cyril Bowers emite la hipótesis de un ligando natural capaz de estimular la producción de GH a través de una vía independiente del GR (Bowers et al., 1984). Sus trabajos llevaron al descubrimiento de péptidos de síntesis, como la hexarelina y el GHRP-6, capaces de estimular la secreción de GH tanto en el hombre como en la rata (Bowers et al., 1984; Smith et al., 1997).

En 1993, el primer secretagogo de la GH (GSH) no peptídico es descrito por los investigadores de la casa Merck (Smith et al., 1993), que refieren más tarde la síntesis de un GHS no peptídico, MK-0677, aún más potente (Patchett et al., 1995). Es en 1996 cuando el receptor de GHS (GHS-R), perteneciente a la familia de los receptores transmembrana con 7 dominios, es identificado y clonado a partir de ADN hipofisario. Este receptor se expresa a nivel del hipotálamo, de la hipófisis y del hipotálamo.

Recientemente, el ligando del GHS-R, llamado grelina (Ghrelin), nombre derivado del proto-indo-europeo ghre, que quiere decir crecimiento, fue descubierto en una fracción purificada obtenida de estómagos de rata (Kojima et al., 1999). Este extracto es capaz de estimular al aumento del calcio intracelular de una línea celular expresando el GHS-R. Se trata de un péptido de 28 aminoácidos (peso molecular: 3315), cuyo tercer residuo la serina está unida a un ácido graso, el ácido n-octanoico, indispensable para su actividad biológica. Es el primer ejemplo de un péptido cuya actividad biológica está regulada por la presencia de un ácido graso. Nada se conoce actualmente sobre el mecanismo que controla esta modificación post-trasduccional. La grelina se sintetiza principalmente en el estómago de rata y más específicamente en las células X/A de la submucosa gástrica. A este nivel, se ha demostrado que la grelina es capaz de estimular la secreción de ácido gástrico por el estómago y que la administración periférica de grelina de forma dosis-dependiente la secreción de GH (Takaya et al., 2000). La administración intra-ventricular de grelina es igualmente capaz de forma potente la secreción de GH.

Se encuentra igualmente en el núcleo arcuato del hipotálamo donde su ARN está presente en las neuronas NPY (neuropéptido Y) y en las neuronas AGRP (Agouti-related protein), implicadas en el control del apetito y del balance energético (Nakazato et al., 2001). Su ARN se ha localizado igualmente en el intestino y el páncreas (Kojima et al., 1999). Circula en sangre, en el hombre adulto su concentración es de 100-120 fmol/ml, sugiriendo que es segregado por las células del estómago a la circulación y que podría actuar por vía endocrina (Takaya et al., 2000). La grelina es capaz de estimular el apetito en las ratas y esta propiedad estaría mediada por la vía de la síntesis de NPY y de AGRP, dos péptidos anorexígenos (Shintani et al., 2001). Este efecto es aparentemente independiente de la GH porque se encuentra igualmente en la rata genéticamente deficiente de GH. Inyectando intraventricularmente, es capaz de anular los efectos anorexígenos de la leptina. Existe pues una interacción competitiva entre estos dos

péptidos en el control del apetito y de la homeostasis energética. Las concentraciones circulantes de grelina en la rata están aumentados durante el ayuno y disminuyen tras la re-alimentación o tras ingestión de glucosa (Tschöp et al., 2000). En el hombre obeso las concentraciones circulantes de grelina están disminuidas y negativamente correlacionadas al porcentaje corporal de tejido graso así como a las tasas circulantes de insulina y leptina (Tschöp et al., 2001). Es posible que la ingestión de alimentos entrañe la liberación de grelina por el estómago, estimule el apetito vía neuronas NPY del hipotálamo a la vez que ejerce un control sobre el balance energético.

Quince años después de la hipótesis de su existencia en el hombre por Cyril Bowers, numerosas cuestiones en cuanto al papel de la grelina en fisiología y fisiopatología quedan todavía por responder: cual es su función en el crecimiento, ¿sus tasas fluctúan en función de la edad, el sexo o el desarrollo? Ejerce un efecto autocrino y paracrino además de un papel aparentemente endocrino, ¿Cuáles son sus efectos y sobre que tejidos y por qué vías intracelulares se ejercen? ¿Hay un efecto de la grelina en las patologías de la nutrición: obesidad, anorexia, situaciones catabólicas? ¿Hay un sitio para la grelina en el arsenal terapéutico de las alteraciones del crecimiento y de la nutrición?

LEPTINA Y EJERCICIO

La información inicial sobre la hormona leptina recientemente descubierta, sugiere un rol primario en el balance de energía y el mantenimiento del peso corporal. Información publicada recientemente sugiere que la leptina tiene un impacto sobre varios temas fisiológicos, incluyendo funciones neuroendócrinas e inmunológicas, siendo también involucrada en el crecimiento y desarrollo. Aunque el rol de la leptina en esas áreas es solo parcialmente entendido, aún menos se conoce sobre los efectos del ejercicio tiene un impacto sobre la concentración de leptina, como entonces afecta el ejercicio la totalidad de las funciones de la leptina.

La leptina, una hormona sintetizada primariamente por el tejido adiposo y secretada al sistema circulatorio, es un pretendido factor de saciedad con receptores en el hipotálamo. La leptina humana es proteína relativamente pequeña (16 kD), la cual comparte un alto grado de homología con otras especies tal como ratones (84%) y ratas

(83%). Aunque rara en humanos, las mutaciones de la leptina en ratones resultan en una deficiencia de leptina y lleva a un temprano inicio de obesidad, hiperfagia e hipogonadismo hipotalámico. A diferencia de la deficiencia de leptina en ratones, los humanos deficientes en leptina no sufren de hiperinsulinemia, hiperglucemia, hipercortisolismo, o hipotermia. Aunque la regulación de la síntesis y liberación de leptina es pobremente conocida, un aparente patrón circadiano de la concentración plasmática de leptina ha sido observado y es similar al de la hormona estimulante de prolactina y tiroxina. Evidencias contradictorias implican a la insulina como un estimulador para la liberación y/o síntesis de leptina, sin embargo, las concentraciones plasmáticas de leptina pueden cambiar independientemente de los cambios plasmáticos de insulina. Hasta ahora, dos intervenciones deprimen consistentemente las concentraciones plasmáticas de leptina: la restricción dietaria de energía y una simple sesión de ejercicio. En contraste, el factor de necrosis tumoral, el cual está presente durante la respuesta inmune a cuerpos extraños, estimula la liberación de leptina en la circulación.

Aunque muchos diferentes factores están involucrados en la regulación de la leptina, evidencias recientes sugieren que esta es almacenada en vesículas dentro del tejido adiposo, y esto puede complicar cualquier asociación entre la concentración plasmática y la regulación de la síntesis de leptina. Por ejemplo, el bloqueo del receptor beta 3 en el tejido adiposo, decrece la concentración de mRNA en el tejido adiposo cuando se compara con grupos controles sin bloqueo, a pesar de que no se altera la concentración plasmática de leptina. Interesantemente las concentraciones plasmáticas de leptina están consistentemente asociadas con la adiposidad en un enlace de retroalimentación negativa (posiblemente para regular la ingesta de alimentos).

La leptina actúa a través de un receptor ligado a membrana (Ob-R) identificado en las células hipotalámicas y hematopoyéticas. Un homodímero de receptor Ob-R es un miembro de la familia del receptor de citosina de clase I, el cual incluye a la interleucina-6. En el hipotálamo, la activación de los receptores Ob-R tiene el propósito de regular la conducta alimentaria, la liberación de cortisol, la función inmune y otros factores de crecimiento, por ejemplo, las elevadas concentraciones de leptina señalan nutrición adecuada y permiten el crecimiento y desarrollo sexual mientras se mantiene la conducta alimentaria. En las células hematopoyéticas, sin embargo los receptores de leptina activados estimulan la agregación plaquetaria, llevando posiblemente a acelerar la

enfermedad vascular. Las mutaciones del receptor Ob-R son raras en humanos, pero llevan a los mismos desordenes que los hallados en pacientes con deficiencia de leptina.

Estudios que examinan los efectos de una sesión simple de ejercicios y leptina plasmática, han hallado resultados conflictivos. Dirlewanger y colaboradores no hallaron cambios en la leptina plasmática en respuesta a ejercicio moderado realizado durante un periodo de tres días. El ingreso energético fue mantenido isoenergético en 1,3 veces la tasa metabólica basal o incrementada para hallar la energía expendeda inducida por el ejercicio. Perusse y colaboradores midieron la leptina plasmática antes, después de 10-12 minutos de cicloergometría a 50 W, e inmediatamente después de alcanzar el esfuerzo máximo. No se hallaron diferencias en la leptina plasmática con la línea de base.

En contraste, Essig y colaboradores, hallaron un 30% de reducción en la leptina, 48 horas después de ejercicio que requirió 6270 kJ (1500 Kcal.) de gasto energético. Usando los mismos sujetos y diseño experimental, no fueron halladas diferencias en ningún punto luego de sesiones de ejercicio que requirieron 3344 kJ (800 Kcal.) de gasto energético. Tuominen y colaboradores además hallaron un 34% de disminución en la leptina sérica 44 horas después por un periodo de 2 horas de ejercicio, realizado al 75% del VO₂ máx. Hilton y Loucks examinaron la restricción calórica, ejercicio y ejercicio con restricción calórica. El ejercicio con restricción calórica fue el único tratamiento que produjo una disminución de la concentración de leptina plasmática 24 horas luego del ejercicio. Thong y colaboradores hallaron algunos resultados similares por inducción de pérdida de peso con restricción dietética solamente, con ejercicio solo o con ejercicio sin pérdida de peso. Los protocolos de dieta sola o de ejercicio, ambos resultaron en significativa pérdida de peso (7,5 Kg) y en la leptina plasmática (alrededor de 5ng/ml), no obstante el ejercicio sin la intervención de pérdida de peso, no produjo cambios en la concentración plasmática de leptina.

Estudios longitudinales sobre ejercicio y entrenamiento reportaron además conflictivos resultados, Kraemer y colaboradores no hallaron ningún cambio en mujeres obesas luego de nueve semanas de clases aeróbicas (el gasto energético estimado fue de 1256 kJ por sesión). Los sujetos mantuvieron sus dietas normales a lo largo del estudio. Aún cuando la aptitud física mejoró, el gasto energético de los individuos en conjunto con la reducción de la ingesta energética, puede no haber sido suficiente

estímulo para reducir la leptina plasmática. Conversely y colaboradores hallaron una disminución de la concentración plasmática de leptina en jóvenes con sobrepeso participantes en un programa de ejercicio y juego estructurado durante cuatro meses.

Aunque la información publicada no es concluyente, los resultados de estudios que evalúan una simple sesión de ejercicio indican que la concentración de leptina puede ser reducida en los días posteriores al ejercicio, si la sesión de ejercicio alcanza un umbral de gasto energético. Los resultados de estudios longitudinales de ejercicio y entrenamiento son menos claros. Si las concentraciones plasmáticas de leptina son alteradas, probablemente exista un umbral indefinido para el déficit total de energía como resultado cualquiera de ambos, o el entrenamiento o la reducción de ingesta calórica.

Considerando que la obesidad es una preocupación primaria de la salud y que muchas personas que pierden peso, recuperan parte sino todo su peso y que la leptina en modelos animales está involucrada en la regulación de la conducta alimentaria, se comprende el impacto de varios estilos de vida tales como el ejercicio, sobre la concentración plasmática de leptina y la regulación de su liberación y/o su síntesis es una importante preocupación de la salud pública.

Futuros estudios de investigación sobre ejercicio deberían focalizarse sobre las siguientes áreas: ¿Existen consecuencias adversas asociadas con elevadas concentraciones de leptina plasmática? Si es así, ¿son las consecuencias adversas un resultado directo de las concentraciones de leptina o el resultado de la adiposidad y la conducta del estilo de vida? ¿Cuáles son los beneficios del descenso de las concentraciones plasmáticas de leptina a través del ejercicio y/o la dieta si ellos están involucrados en un enlace de retroalimentación negativa en la regulación de la conducta alimentaria?

Una simple sesión de ejercicio altera directamente las concentraciones plasmáticas de leptina o son alteradas las concentraciones plasmáticas de leptina como resultado de un cambio en el balance del ingreso y gasto de energía? Comúnmente la evidencia sugiere que el balance de energía es más importante. Sin embargo, un estado de balance positivo de energía no ha sido probado con o sin ejercicio. Cuáles son los mecanismos por los cuales el ejercicio altera la síntesis y la liberación de leptina?

¿Que impacto tienen ambos, o una simple sesión de ejercicio o la participación habitual en ejercicios, sobre la síntesis o liberación de leptina y como puede una alterada concentración de leptina plasmática impactar sobre la densidad del receptor de leptina (receptor Ob-R en el hipotálamo)? En conclusión, se reconoce que la leptina esta involucrada en la maduración física y sexual, sin embargo no sabemos si la evaluación de la concentración de leptina es un síntoma o un factor subyacente en la obesidad, tampoco podemos entender como el ejercicio regula la concentración plasmática de leptina.

REGULACIÓN NUTRICIONAL Y DEL DESARROLLO DE LA LEPTINA PLASMÁTICA EN GANADO LECHERO

Se cree que la leptina puede desempeñar un papel crítico en el metabolismo energético en los mamíferos. En ganado lechero en crecimiento, la leptina del plasma se ha propuesto como mediador parcial de los efectos de la nutrición en el desarrollo reproductivo y mamario. Sin embargo, la etapa de desarrollo en la cual el plano nutricional aumenta la leptina del plasma, no se ha definido bien. Además, es desconocido si el inicio de la pubertad es afectado por la concentración de la leptina del plasma en el ganado lechero. Para investigar estas preguntas, dos estudios fueron realizados por Block et al. (2003).

En el primer estudio, becerros neonatales fueron alimentados con un sustituto de leche a nivel de soportar un aumento diario promedio de 570 g/d (B) o de 1210 g/d (A). Las muestras semanales de la sangre fueron obtenidas hasta la matanza en 105 kilogramos de peso corporal. La leptina y el adiposito del plasma seguían siendo constantes en el B, pero comenzado a aumentar en la tercera semana de la edad en A. en el segundo estudio, becerras de 3-5 meses de edad fueron alimentadas con una ración mezclada suplementada con sales del calcio de ácido palmitito o conjugado con ácido linoleico a los niveles que sostenían un aumento diario de peso promedio de aproximadamente 1.0 kg/d. las muestras de la sangre fueron obtenidas hasta la tercera fase luteal postpuberal. La fuente de grasa no tenía ningún efecto en parámetros del crecimiento, la composición corporal, la edad en la pubertad, o a la leptina del plasma.

Por lo tanto, la leptina del plasma fue reanalizada en función de edad al comienzo del tratamiento hasta matanza. La concentración de la leptina del plasma seguía siendo casi constante en 2.3 ng/ml hasta 1 año de la edad, cuando una subida de leptina del plasma llegó a ser obvia. La pubertad ocurrió con igual frecuencia en cualquier tratamiento, alrededor de 1 año de edad, tiempo en el que la leptina del plasma era casi constante o más adelante cuando se levantaba el nivel de leptina rápidamente.

Concluyeron que la leptina del plasma es regulada por la nutrición en la vida postnatal temprana, pero que un aumento repentino en la leptina del plasma no está requerido para el inicio de la pubertad en el ganado lechero.

BIBLIOGRAFÍA

- Adan L. et al. Effect of short-term testosterone treatment on leptin concentrations in boys with puberal delay. *Horm Res* 1999;52:109-12.
- Adan L. et al. management of the short stature due to puberal delay in boys. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:478-82.
- Ahima RS, Dushay J, Flier SN, Prabakaran D, Flier JS. 1997 Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. *J Clin Invest.* 99:391-395.
- Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, et al. 1996 Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature.* 382:250-252.
- Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, et al. 1996 Leptin is a metabolic signal to the productive system. *Endocrinology.* 137:3144-3147.
- Baura GD, Foster DM, Porte Jr D, et al. 1993 Saturable transport of insulin from plasma into the central nervous system of dogs in vivo. *J Clin Invest.* 92:1824-1830.
- Block, S. S.; J. M. Smith, R. A. Ehrhardt, M. C. Diaz, R.P. Rhoads, M. E. Van Amburgh and Y. R. Boisclair. 2003 Nutritional and Developmental Regulation of Plasma Leptin in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 86:3206-3214.
- Blum W. F. et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1997: 82:2904-10.
- Boden G, Chen X, Kolaczynski JPM. 1997 Effects of prolonged hyperinsulinemia on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Invest.* 100:1107-1113.
- Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. 1996 Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 81:3419-3423.
- Bornstein S, Uhlmann K, Haidan A, Ehrhart-Bornstein M, Scherbaum W. 1997 Evidence for a novel peripheral action of leptin as a metabolic signal to the adrenal gland: leptin inhibits cortisol release directly. *Diabetes.* 46:1235-1238.
- Boss O, Samec S, Paoloni-Giarobino A, et al. 1997 Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Lett.* 408:39-42.
- Bowers CY et al. *Endocrinology* 1984;114:1537-45.
- Campfield L, Smith F, Guisez Y, Devos R, Burn P. 1995 Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science.* 269:546-548.
- Chehab FF, Lim ME, Lu R. 1996 Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat Genet.* 12:318-320.
- Chehab FF, Mounzih K, Lu R, Lim ME. 1997 Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science.* 275:88-90.
- Chipkin S, Kelly K, Ruderman N. 1994 Hormone-fuel interrelationships: fed state, starvation, and diabetes mellitus. In: Kahn C, Weir G, eds. *Joslin's diabetes mellitus.* Philadelphia: Lea & Febiger; 97-115.
- Coleman D. 1979 Obesity genes: beneficial effects in heterozygous mice. *Science.* 203:663-665.
- Coleman DL. 1978 Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. [Review]. *Diabetologia.* 14:141-148.

- Collins S, Kuhn CM, Petro AE, Swick AG, Chrnyk BA, Surwit RS. 1996 Role of leptin in fat regulation. *Nature*. 380:677.
- Considine RV, Sinha M, Heiman M, et al. 1995 Serum immunoreactive leptin concentrations in normal weight and obese humans. *N Engl J Med*. 334:292-295.
- Couto-Silva, A.C.; Trivin, C. Esperou H, Michon J, Fischer A, Bruner R. Changes in weight and plasma leptin after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 26:1205-1210.
- Dirlewanger M, Di Vetta V, Giusti P, et al. Effect of moderate physical activity on plasma leptin concentration in human. *Eur. J Appl Physiol* 1999;79:331-5.
- Egawa M, Yoshimatsu H, Bray GA. 1990 Preoptic area injection of corticotrophin-releasing hormone stimulates sympathetic activity. *Am J Physiol*. 259:R799-R806.
- Elbers J.M.H. et al. Reversal of the sex difference in serum leptin levels upon cross-sex hormone administration in transsexuals. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3267-70.
- Elmquist JK, Ahima RS, Elias CF, Flier JS, Saper CB. 1998 Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95:741-746.
- Erickson J, Ahima R, Hollopeter G, Flier JS, Palmiter RD. 1997 Endocrine function of neuropeptide Y knockout mice. *Regul Pept*. 70:199-202.
- Erickson JC, Clegg KE, Palmiter RD. 1996 Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y [see comments]. *Nature*. 381:415-421.
- Essig DA, Anderson NL, Ferguson MA, et al. Delayed effects of exercise on the plasma leptin concentration. *Metabolism* 2000;49:395-9.
- Fleury C, Neverova M, Collins S, et al. 1997 Upcoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat Genet*. 15:269-272.
- Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Lollman B, Lowell BB, Flier JS. 1995a. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet induced resistance to leptin action. *Nat Med*. 1:1311-1314.
- Frederich RC, Lollman B, Hamann A, et al. 1995b. Expression of ob mRNA and its encoded product in rodents: impact of nutrition and obesity. *J Clin Invest*. 96:1658-1663.
- García-Mayor R.V. et al. Serum leptin levels in normal children: relationship to age, gender, body mass index, pituitary-gonadal hormones and pubertal stage. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2849-55.
- Gimeno RE, Dembski M, Weng X, et al. 1997 Cloning and characterization of an uncoupling protein homolog: a potential molecular mediator of human thermogenesis. *Diabetes*. 46:900-906.
- Gong DW, He Y, Karas M, Reitman M. 1997 Uncoupling protein-3 is a mediator of thermogenesis regulated by thyroid hormone, beta3-adrenergic agonists, and leptin. *J Biol Chem*. 272:24129-24132.
- Halaas J, Gajiwala K, Maffei M et al. 1995 Weight reducing effect of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*. 269:543-546.
- Haynes WG, Sivitz WI, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL. 1997 Sympathetic and cardiorenal actions of leptin. *Hypertension*. 30:619-623.
- Heiman ML, Ahima RS, Craft LS, Schoner B, Stephens TW, Flier JS. 1997 Leptin inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to stress. *Endocrinology*. 138:3859-3863.

- Hilton LK, Loucks AB. Low energy availability, not exercise stress, suppresses the diurnal rhythm of leptin in healthy young women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278:E43-9.
- Himms-Hagen J. 1990 Brown adipose tissue thermogenesis: interdisciplinary studies. *FASEB J.* 4:2890-2898.
- Howard AD *Science* 1996; 273:974-7.
- Jockenhövel F. et al. Testosterone substitution normalizes elevated serum leptin levels in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2510-3.
- Kalra S. 1997 Appetite and body weight regulation: is it in the brain? *Neuron.* 19:227-230.
- Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL, Friedman J, Charron M. 1997 Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. *Nature.* 389:374-377.
- Kerr DJ, Singh VK, McConway MG, et al. 1987 Circadian variation of thyrotrophin, determined by ultrasensitive immunoradiometric assay, and the effect of low dose nocturnal dopamine infusion. *Clin Sci.* 72:737-741.
- Kojima M et al. *Nature* 1999;402:656-60.
- Korbonits M, Trainer PJ, Little JA et al. 1997 Leptin levels do not change acutely with food administration in normal or obese subjects, but are negatively correlated with pituitary-adrenal activity. *Clin Endocrinol (Oxf.)* 46:751-757.
- Kraemer RR, Kraemer GR, Acevedo EO, et al. Effect of aerobic exercise on serum leptin levels in obese women. *Eur J Appl Physiol* 1999;80:154-8.
- Kristöm B. et al. Short-term changes in serum leptin levels provide a strong metabolic marker for the growth response to growth hormone treatment in children. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2735-41.
- Legradi G, Emerson CH, Ahima RS, Flier JS, Lechan RM. 1997 Leptin prevents fasting-induced suppression of prothyrotrophin-releasing hormone messenger ribonucleic acid in neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. *Endocrinology.* 138:2569-2576.
- Levine AS, Billington CJ. 1997 Why do we eat? A neural systems approach. *Annu Rev Nutr.* 17:597-619.
- Liu J, Clarke I, Funder J, Engler D. 1994 Studies of the secretion of corticotrophin-releasing factor and arginine vasopressin into the hypophysial-portal circulation of the conscious sheep. *J Clin Invest.* 93:1439-1450.
- MacDougald OA, Hwang CS, Fan H, Lane MD. 1995 Regulated expression of the obese gene product (leptin) in white adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:9034-9037.
- Maes, M. 2000 A new Leptin Role: Bone Mass Control By A Central Inhibiting Mechanism. *Journal D'endocrinologie Pédiatrique.*
- Maffei M, Halaas J, Ravussin E, et al. 1995 Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med.* 1:1155-1161.
- Mantzoros C.S. et al. A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V. rising leptin levels may signal the onset of puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1066-70.
- Mantzoros C.S., Flier JS, Rogol AD. 1997 A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V. Rising leptin levels may signal the onset of puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 82:1066-1070.

- Mercer JG, Hoggard N, Williams LM, et al. 1996 Coexpression of leptin receptor and preproenkephalin Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus. *J Neuroendocrinol.* 8:733-735.
- Miyakawa M. et al. Effect of growth hormone (GH) on serum concentrations of leptin: study in patients with acromegaly and GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3476-9.
- Moller DE, Chang PY, Yaspekis BB, Flier JS, Wallberg H, Ivy JL. 1996 Transgenic mice with muscle-specific insulin resistance develop increased adiposity, impaired glucose tolerance, and dyslipidemia. *Endocrinology.* 137:2397-2405.
- Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, et al. 1997 Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature.* 387:903-908.
- Nakazato M et al. *Nature* 2001;409:194-8.
- Neel J. 1962 Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress". *Am J Hum Genet.* 14:353-362.
- Palmert M.R. et al. The impact of reversible gonadal sex steroid suppression on serum leptin concentrations in children with central precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1091-6.
- Patchett AA et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1995;92:7001-5.
- Pellymounter M, Cullen M, Baker M, et al. 1995 Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science.* 269:540-543.
- Perusse L, Collier G, Gannon J, et al. Acute and chronic effects of exercise on leptin levels in humans. *J Appl Physiol* 1997;83:5-10.
- Plant T, Durant A. 1997 Circulating leptin does not appear to provide a signal for triggering the initiation of puberty in the male rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Endocrinology.* 138:4505-4508.
- Rauch F. et al. Serum leptin is suppressed by growth hormone therapy in growth hormone-deficient children. *Horm Res* 1998;50:18-21.
- Rentsch J, Chiesi M. 1996 Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes. *FEBS Lett.* 379:55-59.
- Rossetti L, Massillon D, Barzilai N, et al. 1997 Short term effects of leptin on hepatic gluconeogenesis and in vivo insulin action. *J Biol Chem.* 272:27758-27763.
- Rothman D, Magnusson I, Cline G, et al. 1995 Decreased muscle glucose transport/phosphorylation is an early defect in the pathogenesis of noninsulin-dependent diabetes. *Proc. Natl Acad Sci USA.* 92:983-987.
- Rothwell N. J. 1990. Central effects of CRF on metabolism and energy balance. *Neurosci Biobehav Rev.* 14:263-271.
- Saladin R, De Vos P, Guerre-Millo M, et al. 1995 Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature.* 377:527-529.
- Sawchenko PE, Imaki T, Potter E, Kovacs K, Imaki J, Vale W. 1993 The functional neuroanatomy of corticotrophin-releasing factor. *Ciba Found Symp.* 172:5-21.
- Schwartz MW, Dallman MF, Woods SC. 1995 Hypothalamic response to starvation: implications for the study of wasting disorders. *Am J Physiol.* 269:R949-R957.
- Schwartz MW, Figlewitz DP, Baskin DG, Woods SC, Porte D. 1994 Insulin and the central regulation of energy balance: update. *Endocr Rev.* 2:109-113.
- Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG. 1996 Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest.* 98:1101-1106.

- Schwartz MW, Seeley RJ. 1997 The new biology of body weight regulation. *J Am Diet Assoc.* 97:54-58.
- Shintani M et al. *Diabetes* 2001;50:227-32.
- Siegrist-Kaiser C, Pauli V, Juge-Aubry C, et al. 1997 Direct effect of leptin on brown and white adipose tissue. *J Clin Invest.* 100:2858-2864.
- Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML, et al. 1996 Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest.* 97:1344-1347.
- Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML, et al. Nocturnal rise of leptin en lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest* 1996;97:1344-7.
- Smith RG et al. *Endocr Rev* 1997;18:621-45.
- Smith RG et al. *Science* 1993;260:1640-43.
- Solanes G, Vidal-Puig A, Grujic D, Flier JS, Lowell BB. 1997 The human uncoupling protein-3 gene: genomic structure, chromosomal localization, and genetic basis for short and long form transcripts. *J Biol Chem.* 272:25433-25436.
- Spencer C, Lum S, Wilbur J, Kaptein E, Nicoloff J. 1983 Dynamics of serum thyrotropin and thyroid hormone changes in fasting. *J Clin Endocrinol Metab.* 56:56-62.
- Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, et al. 1995 A role for neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature.* 377:530-532.
- Takaya K et al. *J, Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4908-11.
- Thong FSL, Hudson R, Ross R, et al. Plasma leptin in moderately obese men: independent effects of weight loss and aerobic exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000;279:E307-13.
- Tschöp M et al. *Diabetes* 2001;50:707-9
- Tschöp M et al. *Nature* 2000;407:908-13.
- Tuominen JA, Ebeling P, Laquier FW, et al. Serum leptin concentration and fuel homeostasis in healthy man. *Eur J Clin Invest* 1997;27:206-11.
- Umemoto Y, Tsuji K, Yang F, et al. 1997 Leptin stimulates the proliferation of murine myelocytic and primitive hematopoietic progenitor cells. *Blood.* 90:3438-3443.
- Van Heek M, Compton DS, France CF, et al. 1997 Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *J Clin Invest.* 99:385-390.
- Vannucci S, Gibbs E, Simpson I. 1997 Glucose utilization and glucose transporter proteins GLUT-1 and GLUT-3 in brains of diabetic (db/db) mice. *Am J Physiol.* 272:E267-E274.
- Weeke J, Gundersen HJ. 1978 Circadian and 30 minutes variations in serum TSH and thyroid hormones in normal subjects. *Acta Endocrinol (Copenh).* 89:659-672.
- Weigle DS. 1994 Appetite and the regulation of body composition. *FASEB J.* 8:302-310.
- Wendorf M, Golfine ID. 1991 Archaeology of NIDDM. Excavation of the "thrifty" genotype. *Diabetes.* 40:161-165.
- Yu WH, Kimura M Walczewska A, Karanth S, McCann SM. 1997 Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA.* 94:1023-1028.
- Zachow RJ, Magoffin DA. 1997 Direct intraovarian effects of leptin: impairment of the synergistic action of insulin-like growth factor-I on follicle-stimulating hormone-dependent estradiol-17 beta production by rat ovarian granulosa cells. *Endocrinology.* 138:847-850.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. 1994 Positional cloning of the mouse ob gene and its human homologue. *Nature.* 372:425-432.