

9. Papel de la termogénesis en el balance energético

MARÍA JESÚS OBREGÓN PEREA

Se entiende por balance energético el conjunto de mecanismos fisiológicos que contribuyen a mantener un equilibrio entre la ingesta calórica y el gasto energético. Estos mecanismos son capaces de mantener el peso corporal en unos límites muy estrechos, a pesar de las grandes variaciones tanto en la ingesta calórica como en el gasto energético. Todo ello nos indica que existen potentes mecanismos homeostáticos encargados de mantener el peso corporal, de forma semejante a como ocurre con otras constantes biológicas, como la temperatura corporal. Existen situaciones patológicas, como la obesidad o la anorexia, donde la capacidad de regulación del sistema se sobrepasa y su eficacia disminuye sensiblemente frente a estos cambios, creándose resistencias en las respuestas fisiológicas.

La obesidad se produce por un desequilibrio prolongado en el balance energético, es decir, entre ingesta calórica y gasto energético. Cuando hay equilibrio entre ingesta y gasto, el individuo mantiene su peso. Pero un exceso en la ingesta calórica, si no va acompañada de un aumento del gasto energético conduce a un progresivo aumento de la energía almacenada en forma de grasa corporal y a la obesidad. La situación es aún más grave cuando el gasto energético disminuye, bien por falta de ejercicio físico, por disminución del metabolismo basal (hipotiroidismos), o de la termogénesis en sus diversas variantes o por una combinación de todos estos factores, produciéndose una situación que es muchas veces irreversible. La mayoría de nuestros esfuerzos por reducir la grasa corporal se centran en la reducción de la ingesta y la firme adhesión a una dieta hipocalórica. Pero nuestro organismo se adapta rápidamente a la

restricción calórica, reduciendo el gasto energético de modo proporcional y dificultando la pérdida de grasa corporal, como es bien conocido en los fracasos de las dietas de adelgazamiento, una vez que se alcanza una pérdida del peso corporal de aproximadamente el 10% del valor inicial.

Existe una evidencia cada vez mayor de que el gasto energético es un importantísimo modulador de la cantidad de tejido adiposo en cada individuo. Los experimentos del grupo de Danforth en los años setenta (1), nos indican que individuos normales sometidos a la misma dieta hipercalórica y un nivel de actividad similar, presentan una enorme variabilidad en la ganancia o no de peso, así como en la recuperación del peso inicial al volver a una dieta restringida. Es decir: existen grandes variaciones entre individuos en la regulación del balance entre ingesta y gasto energético, de modo que el organismo parece regular de modo individual la cantidad de grasa corporal almacenada. De este modo se postuló la existencia de moléculas producidas por los adipocitos que funcionarían como «adipostatos», regulando el nivel de grasa corporal. Los últimos descubrimientos sobre la fisiología del tejido adiposo nos indican que dicha apreciación era cierta y que, no una, sino varias moléculas actúan para controlar de modo específico el balance energético y la cantidad de grasa corporal.

En este capítulo revisaremos los componentes del gasto energético, con especial énfasis en la termogénesis, pero también se revisarán nuevos conceptos sobre la fisiología del tejido adiposo tanto blanco como marrón, mencionando los últimos descubrimientos en este campo que en la última década han sido muy numerosos. También se abordarán las últimas evidencias sobre la profunda interrelación entre regulación de la ingesta y del gasto energético a través de la termogénesis.

GASTO ENERGÉTICO Y TERMOGÉNESIS

Los animales homeotermos mantienen constante su temperatura corporal frente a las variaciones del medio ambiente mediante la producción de calor, fenómeno que se denomina termogénesis. En ello se diferencian de los animales poiquilotermos, cuya temperatura corporal varía según la temperatura exterior. El gasto energético de un individuo

tiene varios componentes, que se subdividen en: 1) la termogénesis obligatoria o metabolismo basal, 2) la termogénesis asociada a la dieta o efecto térmico de la comida, 3) la termogénesis asociada a la actividad física, y 4) la llamada termogénesis facultativa o adaptativa (2) (Figura 1). Dentro de cada componente existe una parte que es obligatoria y otra parte que es variable y regulable por diversos efectores, por ejemplo, hormonales.

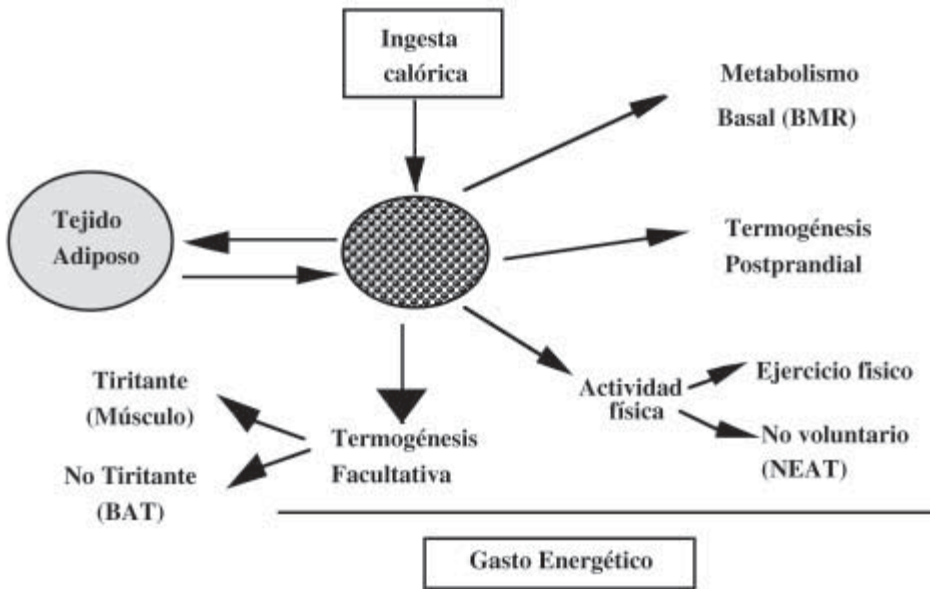


FIGURA 1. Componentes del gasto energético: termogénesis obligatoria o metabolismo basal, termogénesis asociada a la dieta o efecto térmico de la comida, termogénesis asociada a la actividad física y termogénesis facultativa o adaptativa.

1. La termogénesis obligatoria o metabolismo basal constituye un 60-70% de la termogénesis total o gasto energético diario. Es la energía consumida por un individuo en reposo, en ayunas y en condiciones de termoneutralidad (28° C) y se estima en unas 1.600 kcal/día/70 kg peso. Está asociada a reacciones metabólicas esenciales (respiración celular, reacciones metabólicas, temperatura corporal, bombeo de iones, etc...). Es bastante estable, de modo que las variaciones entre individuos son sólo del 10-15% del metabolismo basal. El metabolismo basal es más alto en hombres que en mujeres y se correlaciona con la masa magra

del individuo (no con la masa grasa) y parece tener cierto componente genético de tipo familiar. Actualmente se piensa que el grado de saturación de los ácidos grasos de la bicapa lipídica de la membrana celular sería un componente importante, determinando las diferencias existentes en el metabolismo basal entre especies, ya que el grado de saturación de los ácidos grasos varía con la masa corporal (3, 4). El metabolismo basal está regulado por hormonas tiroideas, disminuyendo en el hipotiroidismo (hasta en un 40%) y de hecho refleja el estado tiroideo de un individuo, siendo usado como índice del estado tiroideo (3). El mecanismo de acción de las hormonas tiroideas sobre el metabolismo basal está en discusión; sus efectos pueden ser debidos a acciones sobre varios aspectos del metabolismo energético (5): un cierto grado de desacoplamiento mitocondrial, el aumento del cociente respiración/ATP (aumento del estado de oxidación 4/3 de la fosforilación oxidativa) (6), acciones sobre los fosfolípidos de membrana (7) o sobre ciertos genes... Se ha propuesto que ciertos metabolitos de la T3 como la 3,5-T3 (1 pM) aumentan la respiración celular por mecanismos extranucleares, sin participación de la síntesis de proteínas... (8). El hipotiroidismo puede causar disminuciones en el metabolismo basal y el gasto energético (9-12) y el control del estado tiroideo de un individuo es fundamental para obtener un correcto balance energético. Por otra parte, el metabolismo basal disminuye en el ayuno, como un mecanismo adaptativo a la restricción calórica, disminuyendo los requerimientos energéticos. A ello contribuye la baja producción hepática de T3, que conduce a una bajada de la T3 circulante (síndrome de la T3 baja) (13-16). El metabolismo basal varía con la fiebre (aumenta un 7-13% por cada grado de fiebre), durante el embarazo y la menstruación, se afecta por el ejercicio físico, el sistema nervioso central y el balance neuroendocrino.

2. Otro de los componentes del gasto energético diario es el efecto térmico de la comida, termogénesis que acompaña a la digestión, absorción, distribución y almacenamiento de los nutrientes, regulado por el sistema parasimpático; representa el 10% del gasto energético diario (230 kcal/día) y tiene un componente adaptativo (35%) que depende de la dieta y está regulado por el sistema simpático. El efecto térmico de los nutrientes es muy diferente en los distintos alimentos, siendo mayor el de los hidratos de carbono y proteínas que el de las grasas, y en este capítulo se podrían citar innumerables estudios. Es también mayor en los alimentos condimentados (picantes) y aumenta con la

cafeína y la nicotina. Asimismo se ha observado que el efecto térmico de un exceso de comida es menor en los pacientes obesos que en sujetos controles (17), pudiendo contribuir a una mayor deposición de grasa en los pacientes obesos.

3. El tercer componente del gasto energético diario es la termogénesis asociada a la actividad física (ejercicio). Este componente de la termogénesis varía mucho según el estilo de vida: constituye el 10% del gasto total en individuos sedentarios y aumenta mucho en deportistas, pudiendo llegar a ser del 50% del gasto total en deportistas de élite. Es muy difícil de cuantificar, ya que depende de la intensidad y duración del ejercicio realizado, de la composición corporal, etc... Además la actividad física aumenta el metabolismo basal y la oxidación de grasas. Es importante resaltar que la reducción del ejercicio físico durante las últimas décadas (ir siempre en coche, la televisión, el menor esfuerzo doméstico, el estilo de vida sedentario...) es el mayor determinante de la creciente tasa de obesidad en nuestra sociedad. Existe además un componente no-voluntario en la actividad física denominado NEAT (Non-exercise activity thermogenesis), que incluye la contracción muscular espontánea, el mantenimiento de la postura, la agitación o inquietud y ha sido analizado en estudios recientes (18) y que parece ser responsable de la variabilidad en la susceptibilidad individual a ganar peso en respuesta a extras de comida. En este estudio, realizado en sujetos no obesos a los que se alimentaba con un exceso de 1.000 Kcal por día sobre los requerimientos diarios, se midieron los distintos componentes del gasto energético: metabolismo basal en reposo, efecto térmico de la comida y aumento del tejido adiposo; se observaron enormes variaciones durante un mes de estudio entre unos individuos y otros, llegándose a la conclusión de que el NEAT, actividad física no voluntaria, es un índice y predice la resistencia individual a ganar peso. Este componente está asociado a nuestra forma de ser y reaccionar y es difícilmente modulable.

4. Por último, tenemos la termogénesis facultativa o adaptativa, que es el calor producido en respuesta a la exposición al frío o a una dieta hipercalórica, y está regulada por el sistema nervioso simpático. Se produce en músculo (tiriteo, contracciones musculares involuntarias) y en tejido adiposo marrón (no tiriteo), tejidos considerados como los lugares principales donde se desarrolla la termogénesis facultativa o adaptativa.

A continuación, se explicarán las características del tejido adiposo marrón, responsable de buena parte de la termogénesis adaptativa o facultativa. Este tejido ha servido como modelo para el estudio de la termogénesis y los procesos de desacoplamiento mitocondrial. Para la mejor comprensión de las moléculas y procesos involucrados en la fisiología del tejido adiposo, se explicarán previamente las características del tejido adiposo blanco para una mejor comprensión del tejido adiposo marrón y de las bases comunes de ambos tejidos.

TEJIDO ADIPOSEO BLANCO

La función principal del tejido adiposo marrón es la termogénesis, mientras que la del tejido adiposo blanco es servir de lugar de almacenamiento del exceso de energía metabólica, que se acumula en forma de lípidos, para que pueda ser utilizada durante los períodos de deprivación calórica (dieta, ayuno, etc.). Sin embargo, el tejido adiposo blanco cumple además una diversidad de funciones actuando como tejido de sostén y protección, de aislamiento térmico, así como de productor y reservóreo de hormonas y otras sustancias —angiotensinógeno, lipoproteín lipasa (LPL), adiposina, leptina, adiponectina, interleukinas y retinoides, entre los más conocidos— (19). A continuación se explican las funciones del tejido adiposo, el adipocito como unidad funcional, su proliferación y los marcadores de diferenciación, los factores de transcripción que regulan la diferenciación de modo coordinado.

Las principales características del tejido adiposo se centran en sus funciones de síntesis (lipogénesis) y movilización de lípidos (lipolisis), funciones para las que el tejido adiposo se encuentra altamente especializado. La capacidad del adipocito para almacenar y movilizar lípidos es función de una batería de genes que proporcionan las proteínas y enzimas requeridas para la conversión de los sustratos energéticos (glúcidos) en lípidos (lipogénesis), para su transporte intracelular y su movilización (lipolisis), con el fin de proporcionar la energía necesaria para las necesidades del organismo. Los lípidos constituyen la forma más eficiente de almacenamiento de energía porque proporcionan la mayor cantidad de calorías por gramo y es por ello que el adipocito blanco es una de las células más eficientes del cuerpo desde el punto de vista energético.

La unidad funcional del tejido adiposo es el adipocito, que procede de células precursoras de origen mesenquimal que se encuentran cerca de las células endoteliales de los capilares sanguíneos y que proliferan ante mitógenos específicos. La angiogénesis o producción de nuevos capilares sanguíneos está muy relacionada con la proliferación del tejido adiposo y los factores de crecimiento fibroblásticos y del endotelio vascular (FGFs y VEGF) participan activamente en la proliferación de las células precursoras del tejido adiposo (20, 21). La monobutirina, un lípido segregado por los adipocitos, parece ser un factor angiogénico específico de adipocitos (22, 23). Durante la diferenciación, el preadipocito adquiere una apariencia redondeada, aumenta su tamaño y el citoplasma se llena, primero de múltiples gotas de lípidos y luego de una gran gota de triglicéridos.

Durante los años ochenta-noventa el grupo de Spiegelman y también los de Lane, Kelly y Bernlohr identificaron una serie de proteínas y genes que se inducían más de cien veces durante el proceso de diferenciación del adipocito, principalmente enzimas lipogénicas y glicolíticas: unos son muy tempranos como la LPL, seguido por las enzimas lipogénicas, el transportador de glucosa GLUT4 o los receptores adrenérgicos que aumentan durante la diferenciación, mientras que otros, como la leptina, adiposina, etc., aparecen tardíamente y son característicos del adipocito maduro (24). Estos marcadores son comunes a los adipocitos blancos y marrones, aunque su expresión varía en ambos tipos de adipocitos. Se encontraron también varios genes, muy abundantes en tejido adiposo, como la aP2, proteína transportadora de lípidos (25). También encontraron una serie de péptidos de la ruta del complemento que se cree cumplen un papel en la defensa contra las infecciones y en la respuesta inmunológica: la adiposina (26), la ASP (proteína estimulante de la acilación, que estimula la síntesis de triglicéridos) y la adiponectina (homólogas a los factores del complemento D, C3a y C1q, respectivamente). La adiposina es homóloga al factor D del complemento, enzima limitante en la ruta alternativa del complemento, se sintetiza en tejido adiposo humano, se segrega a la sangre y sus niveles correlacionan con la adiposidad y se ha postulado que podría tener una función en la regulación sistémica del balance energético (27). La insulina y el IGF-I ejercen una acción bifásica sobre la adiposina. Otros reguladores de la adiposina son los glucocorticoides y el factor de necrosis tumoral α (TNF α), que la inhiben. El TNF α es sintetizado por los macrófagos

y por los adipocitos, con altos niveles en animales obesos y parece jugar un papel importante en la resistencia a la insulina que se encuentra en la obesidad. La adiponectina (adipoQ o Acrp30) es homóloga al factor de complemento C1q (28); su expresión se encuentra inhibida en sujetos obesos, estimula la oxidación de ácidos grasos, disminuye los triglicéridos y aumenta la sensibilidad a la insulina. Inhibe la aterogénesis y el proceso inflamatorio (formación de macrófagos), siendo un marcador de la resistencia insulínica y de riesgo cardiovascular y posiblemente el nexo de unión entre obesidad y enfermedades cardiovasculares. Actualmente la obesidad se relaciona con la inflamación y con un aumento de la presencia de macrófagos en tejido adiposo de obesos, habiéndose descrito que el 30% de los genes sobreexpresados en la obesidad y que correlacionan con el peso corporal son propios de macrófagos (29). El tejido adiposo segrega varias adipokinas (TNF α , IL-6, TGB- β 1) con sobreexpresión en obesos.

La principal hormona reguladora de la lipogénesis es la insulina, que regula la expresión de numerosas enzimas lipogénicas, muchas de ellas marcadores de la diferenciación de los adipocitos —la enzima málico (ME), la glicerofosfato-deshidrogenasa (GPDH), la fosfoenolpiruvato-carboxiquinasa (PEPCK), la lipoproteinlipasa (LPL), etc.— y se han identificado elementos de respuesta a insulina (IREs) en el promotor de estos genes. Además de la insulina, la T3 es necesaria para la diferenciación de los adipocitos; tiene una acción sinérgica con la insulina estimulando lipogénesis, y en los promotores de las enzimas citadas se han encontrado elementos de respuesta para hormonas tiroideas (TREs) (30).

Muchos de los genes presentes en los adipocitos comparten factores de transcripción comunes. Los más estudiados son las proteínas C/EBPs (CAAT/Enhancer Binding Proteins), proteínas activadoras de la unión al elemento CAAT de los promotores génicos. Las proteínas C/EBPs son factores de transcripción que están presentes en altos niveles en el tejido adiposo y en otros tejidos como el hígado y activan los promotores de muchas de las enzimas involucradas en el metabolismo energético (PEPCK, GLUT4), y de proteínas específicas de adipocitos (aP2, UCP-1). Sus diversas isoformas (α y β) son importantes para el establecimiento del fenotipo adipocítico (31, 32). De esta forma un mismo factor de transcripción activaría al mismo tiempo varios pasos de la adipogénesis.

Se han intentado identificar aquellos factores de transcripción que serían responsables del fenotipo adipocítico y aquellos involucrados en la diferenciación del adipocito blanco y de sus diferencias con el adipocito marrón. Dichos factores de transcripción son el ADD1/SREBP1, que parece determinar el paso al fenotipo adipocítico (33) y regula genes como leptina y FAS y el PGC-1, que es un coactivador de los PPAR γ (PPAR = receptor de los activadores de la proliferación de peroxisomas), que se induce por frío (34, 35) y parece asociado al fenotipo del adipocito marrón. El receptor PPAR γ es miembro de la familia de receptores nucleares a la que pertenecen los receptores de hormonas tiroideas, de retinoides y vitamina D, y parece involucrado específicamente en la diferenciación del adipocito marrón y es activado por las drogas antidiabéticas tiazolidinedionas (TZD) y su ligando es un derivado del ácido araquidónico (15-deoxi- $\Delta^{12,14}$ prostaglandina J2).

Existen moduladores importantes de la diferenciación de los adipocitos, y estos son: los glucocorticoides, que inhiben profundamente su proliferación y favorecen la acumulación de lípidos; los esteroides sexuales, que tienen acciones distintas en las distintas localizaciones corporales, influyendo en la diferente distribución de la grasa corporal según el sexo. Los estudios de Björntorp (36) establecieron que la acumulación de grasa abdominal o central, más frecuente en el sexo masculino, representa un mayor riesgo cardiovascular que las localizaciones de grasa periférica o subcutánea, asociadas al sexo femenino.

TEJIDO ADIPOSO MARRÓN

El tejido adiposo marrón (BAT por sus siglas en inglés: Brown Adipose Tissue), fue considerado durante muchos años como un tejido característico de los animales hibernantes; pero está también presente en roedores y en pequeños mamíferos, aumentando mucho en aquellos adaptados al frío y en mamíferos recién nacidos, incluido el hombre.

Es interesante recordar la localización anatómica del BAT. Se encuentra recubriendo la mayoría de los centros vitales (corazón, riñón, aorta y vías circulatorias). Ello es explicable, ya que su función primigenia era calentar la sangre del animal hibernante durante el despertar de la hibernación comenzando por los centros más vitales (co-

razón, riñón, aorta, etc.). Esta localización es muy clara en el hámster tras la exposición al frío, donde se encuentra recubriendo la aorta y en áreas cervical, axilar, interescapular, en el corazón y en la región suprarrenal.

Aunque el BAT mantiene una serie de funciones de almacenamiento de lípidos, es claramente diferente del tejido adiposo blanco, debido fundamentalmente a su capacidad termogénica. La respuesta termogénica se produce cuando la calorígenes basal es insuficiente para cubrir los requerimientos termogénicos (por ejemplo, durante la exposición al frío). El BAT se estimula por el frío y por la dieta, especialmente por dietas hipercalóricas.

El principal modulador de la actividad del BAT es el sistema nervioso simpático. La norepinefrina (NE), liberada en las terminaciones sinápticas, es el mediador fisiológico en la respuesta al frío, que no sólo aumenta la potencia termogénica del BAT, sino que además produce un aumento de la proliferación de las células precursoras. De esta forma aumenta el número de adipocitos y su capacidad termogénica, multiplicándose su efecto. Esto ocurre también tras la administración de dietas hipercalóricas y esta estimulación es también vía noradrenérgica. En ciertas patologías, como el feocromocitoma, un tumor productor de catecolaminas, la cantidad de tejido adiposo marrón aumenta mucho bajo la estimulación continuada por NE (37).

La proliferación celular del tejido adiposo marrón ocurre inicialmente durante la vida fetal y perinatal, dependiendo su aparición de la especie estudiada (38). Se cree que durante el período fetal el factor mitogénico podría ser el IGF-I (39). Durante el período adulto se puede inducir proliferación del BAT, por ejemplo, durante la exposición crónica al frío o por dietas hipercalóricas. En estas situaciones la NE actúa como factor mitogénico en conjunción con otros mitógenos. Los estudios de Buckowiecki en ratas indican que la exposición al frío o la infusión con NE, aumenta 70 veces la proliferación de los preadipocitos (40, 41). Nuestros estudios y los de otros grupos *in vitro* usando preadipocitos en cultivo indican que la NE, en presencia de suero y factores de crecimiento, aumenta la síntesis de DNA (42, 43).

La diferenciación del tejido adiposo marrón contempla dos aspectos principales: a) los procesos lipogénicos, similares a los descritos

en el tejido adiposo blanco, y *b*) los procesos termogénicos que son estimulados por la NE y ocurren en las mitocondrias. Los procesos lipogénicos, aunque frecuentemente son regulados de distinta manera que en el adipocito blanco, son necesarios para suministrar los lípidos necesarios para la combustión termogénica. Nosotros hemos analizado la expresión de varios marcadores lipogénicos usando adipocitos marrones en cultivo: la enzima málico y la S14, un factor de transcripción presente en tejidos lipogénicos (44-46). Ambos se regulan por insulina y T3, mientras que agentes lipolíticos como la NE o el glucagón los regulan negativamente. Otro marcador de diferenciación es la lipoproteína lipasa (LPL), que se sintetiza en tejido adiposo y se secreta al endotelio capilar donde hidroliza los triglicéridos presentes en los quilomicrones. La LPL se estimula por insulina y en BAT específicamente por NE (47). La LPL es la enzima encargada de reclutar los lípidos circulantes necesarios para la combustión mitocondrial y por ello es una enzima clave dentro del funcionamiento del adipocito marrón.

Pero los aspectos más interesantes del BAT son los relativos a la estimulación de la termogénesis. La función primordial del tejido adiposo marrón es la producción de calor. La molécula responsable de dicho fenómeno es una proteína mitocondrial: la termogenina o UCP-1 (por su nombre en inglés: UnCoupling Protein), que desacopla el flujo de protones de la fosforilación oxidativa produciendo calor en vez de ATP. La UCP-1 es el marcador específico del BAT y se induce por la exposición al frío o por efecto de la dieta, aumentando el consumo de oxígeno. La NE (o la exposición al frío) a través de los agonistas adrenérgicos β_3 son sus activadores principales (48) (Figura 2). La UCP-1 forma un dímero en la membrana interna de la mitocondria que funciona como un canal iónico, que en su estado activo desacopla el ciclo de producción de ATP disipándose la energía como calor. El principal activador en este proceso son los ácidos grasos, mientras que los nucleótidos de adenosina y guanina la inhiben. Recientemente se ha identificado UCP-1 en el músculo esquelético de ratones estimulados con un agonista β_3 (CL-316243), rompiéndose con ello el dogma de que la UCP-1 sólo existe en BAT (49). Además, nosotros hemos observado que el Triac, derivado fisiológico de la T3, induce la UCP-1 en tejido adiposo blanco de ratas. También se ha identificado UCP-1 en músculo liso del tracto gastrointestinal y reproductivo.

En el gen de la UCP-1 se ha identificado zonas del promotor génico que contienen elementos de respuesta a AMP cíclico (CREs) y otras con elementos de respuesta a hormonas tiroideas (TRE) (50, 51). El grupo de Silva ha demostrado que la UCP-1 necesita hormonas tiroideas para la estimulación adrenérgica, siendo deficitaria la termogénesis en respuesta al frío en animales hipotiroideos (52). Nosotros estudiamos el aumento de UCP-1 tras el parto, que está disminuido en ratas hipotiroideas (53) y sus niveles se restauran con hormonas tiroideas (54). Los estudios del promotor de UCP-1 demuestran que las hormonas tiroideas son necesarias para la estimulación adrenérgica de UCP-1 (55). Además, la T3 es capaz de estimular la síntesis de UCP-1, en ausencia de NE, lo cual indica la capacidad termogénica de las hormonas tiroideas (56). También hemos demostrado que el Triac es diez veces más potente que la T3 en la estimulación del mRNA de UCP-1 (57).

El coactivador, PGC-1, inducible por el frío en tejido adiposo marrón y músculo, aumenta la actividad transcripcional de PPA γ_2 y del receptor de T3 sobre el promotor de UCP-1, aumentando también las enzimas de la cadena respiratoria y el DNA mitocondrial. Parece estar ligado a la activación de UCP-1 y a los procesos ligados a termogénesis adaptativa (58). Su expresión ectópica en adipocitos blancos activa UCP-1 (35).

TEJIDO ADIPOSO MARRÓN EN EL HOMBRE

La presencia de tejido adiposo marrón en humanos, que durante años se había considerado una entelequia, está hoy ampliamente demostrada en fetos y niños recién nacidos, en personas expuestas al frío, en pacientes con feocromocitoma y en otras patologías. Los estudios de Lean y Trayhurn en autopsias (59) encuentran UCP-1 en localización perirrenal y axilar en niños, jóvenes y adultos y en feocromocitomas (8-15 y 20-40 μg UCP-1/mg de proteína mitocondrial, respectivamente) y lo mismo encuentran otros estudios de Garruti y de Houstek (niños, feocromocitomas y aldosteronismo primario) (60, 61). En otro estudio se analizaron la expresión de los tres receptores beta-adrenérgicos: β_1 , β_2 y β_3 y la UCP-1 en biopsias de tejido adiposo de ocho niños y 28 adultos (62). La expresión del receptor adrenérgico β_3 y de la UCP-1 corren parejos y se encuentran en el BAT de niños y de adultos.

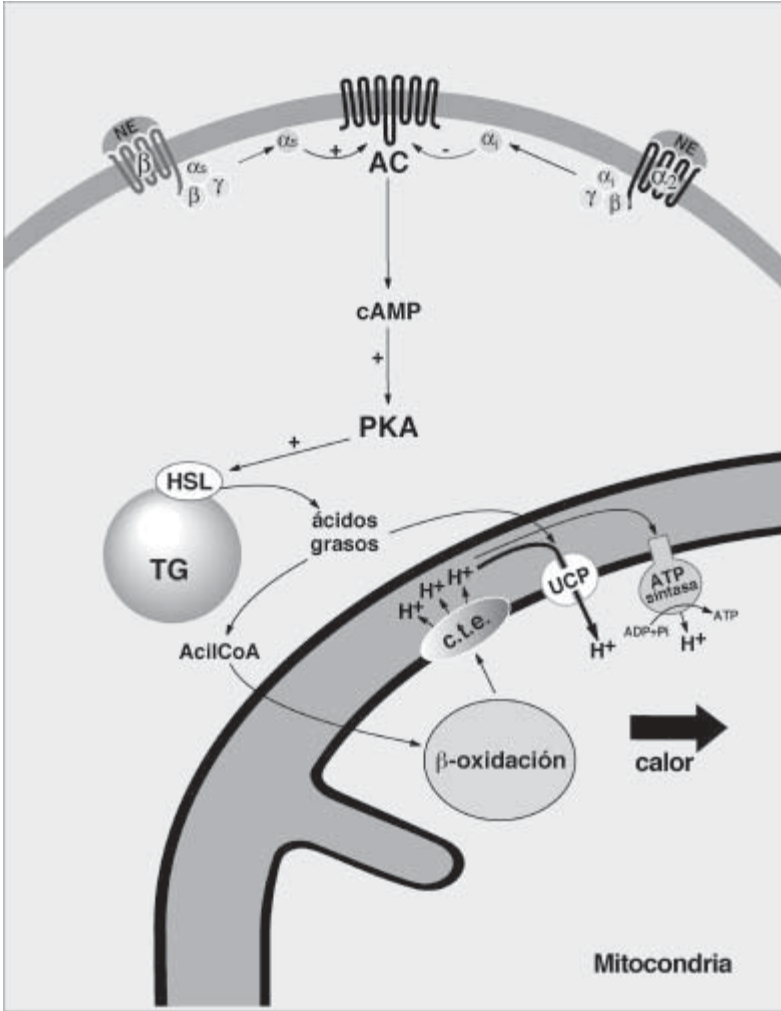


FIGURA 2. Estimulación de la termogénesis en tejido adiposo marrón. La NE estimula los receptores adrenérgicos α (1 y 2) y β (1, 2 y 3). Los receptores adrenérgicos beta y α_2 , a través de las proteínas G (α_s y α_i , β y γ) estimulan o inhiben la adenilato ciclasa (AC), la producción de AMP cíclico (cAMP) y la proteína quinasa A (PKA). Ello provoca la estimulación de la lipasa sensible a hormona (HSL) y la hidrólisis de los triglicéridos a ácidos grasos que estimulan la beta oxidación, la termogénesis y UCP1 y la cadena de transporte electrónico (c.t.e.). En la estimulación de la UCP1 se produce un desacoplamiento mitocondrial y parte de la energía que se acumularía como ATP se utiliza en la producción de calor, actuando la UCP1 como un canal iónico. Simultáneamente, el AMP cíclico activa la transcripción de UCP-1, aumentando los niveles de UCP-1 en mitocondrias y con ellos la producción de calor en la termogénesis adaptativa.

Sin embargo, nadie ha evaluado cuánto tejido adiposo marrón hay en humanos, aunque se supone que sus variaciones pueden ser enormes, según la exposición al frío y el estado nutricional. El gen de UCP-1 se ha clonado en humanos y queda por realizar un estudio completo de su localización en sujetos adultos. También se han descrito polimorfismos en el promotor del gen de UCP-1 (63), que correlacionan con parámetros de obesidad.

Por último debemos considerar la existencia del tejido adiposo convertible. A medida que aumenta el tamaño del animal y disminuye la relación entre superficie corporal y peso, el animal es menos dependiente de la termogénesis facultativa para mantener la termoneutralidad, ya que las pérdidas de calor por la piel son menores. En los rumiantes, el BAT degenera rápidamente después del nacimiento perdiendo su capacidad termogénica y esto ocurre en prácticamente todas las especies. Sin embargo, existen estudios que indican que dicha capacidad termogénica puede ser reinducida por exposición al frío, en varias localizaciones del tejido adiposo (por ejemplo, inguinal) (64). Esta reinducción puede monitorizarse por la aparición de la UCP-1 en las mitocondrias del tejido adiposo blanco que se ha transformado en BAT.

Por tanto, es evidente que el tejido adiposo marrón está presente en el hombre en los primeros años de la vida, que posteriormente se diferencia a algo parecido al tejido adiposo blanco (tejido adiposo convertible) y que en situaciones de alta estimulación (frío, feocromocitoma, ciertos fármacos), existe una clara reinducción de la capacidad termogénica y de la mitocondriogénesis. Quedan muchas preguntas: si los agonistas β 3-adrenérgicos, las TZ o la leptina serían capaces de realizar esta reinducción, o si otras sustancias como la cafeína y efedrina pueden reactivar la termogénesis (65, 66). Buena parte de las acciones de los agonistas β 3 serían mediadas por los receptores β 2 del músculo y no del tejido adiposo marrón. Por tanto, esta es un área de investigación farmacológica en desarrollo.

TEJIDO ADIPOSO MARRÓN Y OBESIDAD

La estimulación adrenérgica en BAT tiene lugar vía receptores β -adrenérgicos, con una cierta participación de los receptores adrenér-

gicos α -1. Sin embargo, el tejido adiposo (blanco y marrón) tiene altos niveles del receptor β 3-adrenérgico, responsable de funciones lipolíticas y termogénicas. Primeramente se describieron los agonistas β 3-adrenérgicos, llamados inicialmente agonistas del receptor «atípico», debido a su baja afinidad por varios antagonistas adrenérgicos. Pronto fue evidente que dichos agonistas, inicialmente diseñados para producir acciones β 2-adrenérgicas, estimulaban selectivamente los receptores β 3 adrenérgicos en rata, con actividades lipolíticas y termogénicas. Por su capacidad de estimular la UCP-1, los agonistas β 3 permitirían tratar la obesidad, pero con menores efectos secundarios indeseables sobre el sistema cardiovascular que los β -agonistas clásicos. En realidad, los agonistas β 3 se han empleado en algunos estudios en animales experimentales con resultados variables en la reducción del peso y grasa corporal, reducción de la insulinemia y glucemia, aumentos en la termogénesis, aumento en la sensibilidad a la insulina, bajada de lípidos, etc. Existe, sin embargo, controversia sobre sus efectos en humanos. Los receptores β 3 adrenérgicos han sido clonados en distintas especies, incluyendo el hombre, y existe diversidad entre las distintas especies, tanto en las respuestas como en la sensibilidad a distintos agonistas. Los estudios actuales estudian la potencialidad de estos agonistas adrenérgicos β 3 sobre el receptor adrenérgico β 3 en humanos. Desgraciadamente, o bien los efectos no son tan claros como en roedores, o existen efectos secundarios como temblores o afectación cardíaca. En resumen, el efecto de los agonistas adrenérgicos β 3 es mucho menor en el hombre que en los roedores, ya que dichos agonistas fueron diseñados para el receptor adrenérgico β 3 de rata.

Tras el clonaje de los receptores adrenérgicos, se han identificado mutaciones en los receptores β 3-adrenérgicos con alta frecuencia en algunas poblaciones que padecen obesidad (indios Pima) o incluso en mujeres obesas, asociadas a un metabolismo basal más bajo, inicio temprano de diabetes o obesidad abdominal, así como su asociación con polimorfismos en UCP-1. Estos hallazgos indican que los receptores β -adrenérgicos juegan un papel importante en el balance energético y la homeostasis de la glucosa en el hombre, aunque no prueban que ésta sea la causa de obesidades mórbidas, ya que la causa de la obesidad es multifactorial y poligénica.

El interés creciente suscitado por el tejido adiposo marrón se basa en su función potencial como regulador del balance energético, de for-

ma que su inactivación conduciría a formas de obesidad. Debido a su alta capacidad termogénica, las pequeñas cantidades presentes en el hombre podrían contribuir en un 10-15% al balance energético, lo cual sería suficiente para lograr grandes diferencias en los depósitos de grasa entre individuos con distintos niveles de actividad termogénica. En los animales obesos la termogénesis se encuentra disminuida debido a la baja actividad simpática en los animales obesos, aunque ésta puede ser estimulada por agentes adrenérgicos exógenos. La inactivación de la potencia termogénica del BAT está asociada al desarrollo de obesidad tanto en modelos experimentales de obesidad (por ejemplo, en ratones obesos), como en ratones transgénicos donde se bloquea el gen de UCP-1, y se postula que la obesidad podría una consecuencia de la privación de UCP-1 y de la baja actividad termogénica del BAT.

Para aclarar las conexiones entre tejido adiposo marrón y obesidad, se utilizaron ratones transgénicos en los que se produce una ablación genética del BAT (67). En estos animales se produce un aumento de la masa grasa (>50% del peso corporal), tienen hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipercolesterolemia y hipertrigliciremia, es decir, todos los estigmas de la obesidad, pero no desarrollan hiperfagia hasta que la obesidad está avanzada. Tienen un gasto energético disminuido y resistencia insulínica. Su respuesta a agonistas β_3 adrenérgicos, medida como consumo de oxígeno, está disminuida al 50%. De las dos cepas de ratones transgénicos generados, una de ellas regeneró su BAT, desapareciendo la obesidad de modo paralelo, evidenciándose que la obesidad es consecuencia de la deficiencia en BAT. Estos animales tienen disminuida su T_{ra} corporal en 1° C. Este modelo indica que el BAT tiene un papel importante en la homeostasis nutricional.

Posteriormente se produjeron otros ratones transgénicos en los cuales sólo se suprimía el gen de la UCP-1 (68). Estos ratones son sensibles al frío, pero no obesos, sugiriendo que aunque el BAT parece importante en la prevención de la obesidad, las funciones de la proteína UCP-1 estarían relacionadas sólo con la defensa frente al frío. También se han generado ratones con sobreexpresión de UCP-1 en tejido adiposo blanco bajo el control de la proteína $\alpha P2$ (69). Dicha sobreexpresión de UCP-1 reduce tanto la obesidad genética como la obesidad producida por dietas con alto contenido en grasas, aunque curiosamente induce un gran aumento en la cantidad de grasa periovárica.

LAS NUEVAS UCPS Y LA TERMOGÉNESIS

En 1997 se clonaron dos nuevas UCPS (UCP-2 y UCP-3), análogas a la UCP1 en un 60% (70, 71). Ambas UCPS se encuentran en el cromosoma 11 humano, donde se han mapeado otros genes relacionados con la hiperinsulinemia y la obesidad, se encuentran en regiones muy cercanas y parecen ser el resultado de una duplicación génica (72). Se identificaron por analogía con la UCP-1 y podrían explicar el desajuste de un 25-33% en las medidas de consumo de oxígeno en humanos, que sugerían la existencia de UCPS, distintas de la UCP-1 (73, 74).

La UCP-2 tiene una amplia distribución en tejidos, incluyendo músculo esquelético y corazón (70). Se expresa en varios tejidos humanos, sobre todo en aquellos ricos en macrófagos, en BAT y en tejido adiposo blanco, donde aumenta en respuesta a las dietas ricas en grasas. Aunque se postuló que la estimulación de la UCP-2 podría conducir a la disminución de la obesidad, actualmente esta idea ha sido desechada completamente. La UCP2 se expresa ya durante la vida fetal en BAT e hígado (75) y aumenta mucho con las infecciones en hígado o músculo, con la administración de TNF- α o en procesos inflamatorios. La UCP2 y UCP3 aumentan en el hombre en respuesta al ayuno (76). Además otros estudios indican que, aunque su expresión es bastante estable, la UCP-2 se regula por ácidos grasos, hormonas tiroideas, frío, leptina y TZD, pero su regulación puede ser diferente según los tejidos, edad o susceptibilidad genética (77).

La UCP3, sin embargo, se expresa de modo más específico en músculo esquelético y BAT (78) y es regulada por hormonas tiroideas y frío en BAT, pero sólo por T3 en músculo esquelético. La leptina y TZ también regulan UCP3. El ayuno tiene efectos contrapuestos en BAT y músculo (79, 80). Ambas UCPS, al ser sobrepresadas en levaduras, funcionan como canales de protones, como UCP-1 (70); sin embargo los efectores de dicho desacoplamiento parecen ser diferentes. Otro aspecto interesante es que la leptina aumenta la expresión de las tres UCPS, como se verá más adelante.

Con las nuevas UCPS comienzan a conocerse los distintos mecanismos de regulación del gasto energético en humanos, en otros tejidos distintos del tejido adiposo marrón, y explica que personas con distintos niveles de UCPS y de actividad termogénica, tendrían un gasto energé-

tico diferente y diferente tendencia a la acumulación de grasa corporal y a desarrollar obesidad.

Sin embargo, aunque inicialmente se pensó que las UCP2 y 3 podrían ser buenas dianas para el tratamiento contra la obesidad debido a su amplia distribución, su expresión en músculo y sus funciones potencialmente termogénicas, sin embargo los ratones transgénicos «nulos» para UCPs no tienen un fenotipo obeso y su respuesta al frío o la dieta son normales. Los ratones nulos para UCP2 son resistentes a las infecciones (81) y la UCP2 parece tener un papel en la inmunidad mediada por macrófagos y en la limitación de «especies reactivas» de oxígeno (ROS). La sobreexpresión de UCP2 en islotes beta modula la secreción de insulina inducida por glucosa.

Los ratones nulos para UCP3 no son obesos, y parece que la UCP3 tiene cierto papel en el desacoplamiento mitocondrial y en la oxidación de lípidos (82, 83). Los ratones transgénicos con sobreexpresión de UCP3 humana en músculo, a pesar de ser hiperfágicos, pesan menos y tienen menos grasa corporal y tiene niveles más bajos de glucosa e insulina, con un aumento del aclaramiento de glucosa (84). Pero se ha criticado que los niveles de UCP3 en músculo son muy altos y poco fisiológicos en estos ratones.

Varios estudios han analizado la conexión entre polimorfismos para UCPs y obesidad, existiendo discusión entre los hallazgos de varios grupos, y defendiéndose que polimorfismos en la UCP1 y UCP3 podrían modular la susceptibilidad individual a la obesidad según el gasto energético.

EL TEJIDO ADIPOSO COMO APARATO SECRETOR

Tradicionalmente el tejido adiposo se consideraba un depósito «pasivo» destinado al almacenamiento de lípidos o a su movilización, cuando el organismo requería energía. Sin embargo, hoy se contempla el tejido adiposo como aparato secretor, endocrino y paracrino, involucrado en el control del balance energético (19). La diferenciación de los adipocitos se acompaña de la producción y secreción de un gran número de proteínas, descritas más arriba. La síntesis de estrógenos y andrógenos en tejido adiposo representa un 40% de los andrógenos activos en

el varón y un porcentaje aún mayor de los estrógenos en la mujer, siendo el tejido adiposo una fuente importante de esteroides sexuales después de la menopausia. El angiotensinógeno es sintetizado por el tejido adiposo en donde su expresión está elevada en obesos; se regula por el estado nutricional, en tejido adiposo, pero no en hígado. Dicha producción local podría regular el flujo sanguíneo en el tejido adiposo y podría tener un papel en la relación entre tejido adiposo e hipertensión. El TNF α producido por macrófagos es también sintetizada en tejido adiposo, con sobreexpresión en obesidad. Interfiere con la acción de la insulina, reduciendo la actividad tirosin-kinasa del receptor de insulina y produciendo resistencia insulínica.

Pero el ejemplo más importante de las moléculas sintetizadas por el tejido adiposo es la leptina, proteína codificada por el gen *ob*, que regula el apetito y el balance energético. Los ratones *ob/ob*, con una mutación en la arginina 105 de la leptina son genéticamente obesos, síndrome similar a la obesidad mórbida (85). La administración de leptina a los *ob/ob* reduce la ingesta, la glucosa e insulina circulantes y aumenta el gasto energético, disminuyendo la grasa corporal (26, 87). Es claro que la leptina no sólo regula el tamaño de los depósitos grasos, sino también el apetito, el metabolismo y el balance energético, ya que la reducción de la ingesta calórica a ratones *ob/ob* hasta ingesta similares a la de los ratones *ob/ob* inyectados con leptina, no reduce su peso corporal.

La leptina se expresa fundamentalmente en tejido graso con un amplio espectro de expresión según las diferentes localizaciones de grasa, pero también se sintetiza en otros tejidos, como la placenta, la médula ósea, tracto gastrointestinal... La leptina se sintetiza en los adipocitos maduros, no en sus células precursoras. La grasa abdominal tiene niveles más altos de leptina, regulables por insulina, mientras que la subcutánea no parece regulable por insulina. El ayuno disminuye los niveles de leptina, mientras que la insulina los aumenta. El frío y los agonistas adrenérgicos $\beta 3$ disminuyen la expresión de leptina en tejido adiposo.

La leptina y el % libre de leptina es más elevado en obesos. La leptina se expresa abundantemente en tejido adiposo humano y existe una correlación positiva entre el % de grasa corporal y los niveles de leptina o la expresión de su mRNA. Aunque los obesos tienen niveles elevados de leptina, éstos son inefectivos para regular el peso

corporal (88). Se ha postulado una resistencia hipotalámica a la acción de la leptina a nivel de su receptor o en el sistema de transporte. Sólo se han encontrado mutaciones de leptina en algunas familias de obesos (89).

La leptina actúa a nivel hipotalámico donde reduce los niveles de neuropéptido Y (orexigénico) y estimula las melanocortinas (que disminuyen el apetito y aumentan el gasto energético). La leptina induce la expresión de POMC y α MSH, ligando de los receptores MC4R. El receptor de la leptina ha sido identificado en el hipotálamo (90) y hay varios receptores de leptina, aunque sus formas principales son dos: a y b, también llamadas forma corta y larga, siendo esta última la forma activa (91). Es un receptor transmembrana relacionado con el receptor de interleukinas, que se une a los factores de transcripción Stat.

Además de los efectos de la leptina sobre la regulación del apetito, actualmente se investiga activamente sus efectos sobre el balance energético. Sus efectos sobre la homeostasis de la glucosa son notables. Inhibe la expresión de la AcetilCoA carboxilasa, enzima llave en la ruta de síntesis lipídica, mientras que aumenta las enzimas responsables de la oxidación de ácidos grasos en mitocondrias y peroxisomas; de este modo la leptina aumenta la expresión de enzimas del metabolismo de los ácidos grasos (92). Además la leptina interfiere con la secreción de insulina de los islotes pancreáticos, reduce el transporte de glucosa a los adipocitos (mediado por insulina) y aumenta su transporte en músculo, la síntesis de glucógeno y la oxidación de ácidos grasos. De este modo se ha propuesto que la leptina influiría mejorando el tráfico de metabolitos del tejido adiposo al músculo esquelético. La leptina aumenta la expresión de las tres UCPs. Los experimentos de Unger de transferencia génica que inducen hiperleptina en ratas diabéticas mediante adenovirus (93) indican que la leptina disminuye la grasa corporal, induciendo mitocondriogénesis en adipocitos blancos y induciendo la expresión de numerosos marcadores como PGC-1 α (marcador de mitocondriogénesis), UCP1, UCP2 y la kinasa dependiente de AMP (AMPK) que aumenta la oxidación de ácidos grasos, sugiriendo que la leptina es capaz de transformar los adipocitos blancos en células que queman la grasa. Estos experimentos nos indican que existen nexos de unión entre la regulación del apetito y el control del gasto energético, de modo que ambos se encuentran perfectamente relacionados.

CONCLUSIONES

En este capítulo hemos analizado los componentes de la termogénesis que controlan el gasto energético (94). También hemos descrito los mecanismos que regulan la proliferación y diferenciación del tejido adiposo, tanto blanco como marrón, y en el adipocito marrón los procesos que ejemplifican y regulan la termogénesis. El adipocito sintetiza una variedad de proteínas que actúan a nivel de todo el organismo, regulando el tamaño del tejido adiposo, el apetito en el hipotálamo y el balance energético a nivel periférico, existiendo una clara interrelación entre el control del apetito y la regulación del gasto energético. La investigación actual sobre tejido adiposo investiga aquellas sustancias que aumentarían el gasto energético, como la leptina o las nuevas UCPs y otras que inciden en sus rutas de transducción, o en aquellas que aumentarían el gasto energético a través de los receptores adrenérgicos. Junto con las intervenciones necesarias para el control de la dieta y el ejercicio físico, parece importante controlar la presencia de hipotiroidismos que pueden causar disminuciones del metabolismo basal.

CLAVE DE ABREVIATURAS

AMPK	Kinasa dependiente de AMP
aP2	Proteína transportadora de lípidos
ASP	Proteína estimulante de la acilación
BAT	Tejido adiposo marrón
C/EBP	Proteínas activadoras de la unión al elemento CAAT del promotor
CRE	Elemento de respuesta a AMP cíclico
FAS	Sintetasa de Ácidos grasos
FGF	Factor de crecimiento fibroblástico
IGF-1	Factor de crecimiento análogo a Insulina-1
IRE	Elemento de respuesta a insulina
LPL	Lipoproteína lipasa

ME	Enzima málico deshidrogenasa citosólica
NE	Norepinefrina
PEPCK	Fosfoenolpiruvato carboxikinasa
PGC-1	Coactivador de los receptores PPARgamma
PPAR γ	Receptor de los activadores de la proliferación de peroxisomas gamma
SREBP1	Factor de transcripción que se liga al SRE (sterol regulatory element)
T ₃	3',3,5-triiodo-L-tironina
TNF- α	Factor de necrosis tumoral- α
TRE	Elemento de respuesta a hormonas tiroideas
Triac	Ácido 3',3,5, triyodo-tiroacético
TZ o TZD	Tiazolidinedionas
UCP-1, UCP-2, UCP-3	Proteínas desacoplantes 1, 2, 3
VEGF	Factor de crecimiento del endotelio vascular

BIBLIOGRAFÍA

- (1) SIMS, E.A.; DANFORTH, E. JR.; HORTON, E.S.; BRAY, G.A.; GLENNON, J.A., SALANS, L.B. (1973): Endocrine and metabolic effects of experimental obesity in man. *Recent Prog Horm Res* **29**: 457-496.
- (2) SIMS, E.A., DANFORTH, E. JR. (1987): Expenditure and storage of energy in man. *J Clin Invest* **79**: 1019-1025.
- (3) HULBERT, A.J., ELSE, P.L. (2004): Basal metabolic rate: history, composition, regulation, and usefulness. *Physiol Biochem Zool* **77**: 869-876.
- (4) HULBERT, A.J., ELSE, P.L. (1999): Membranes as possible pacemakers of metabolism. *J Theor Biol* **199**: 257-274.
- (5) HULBERT, A.J. (2000): Thyroid hormones and their effects: a new perspective. *Biol Rev Camb Philos Soc* **75**: 519-631.
- (6) HAFNER, R.P.; BROWN, G.C., BRAND, M.D. (1990): Thyroid-hormone control of state-3 respiration in isolated rat liver mitochondria. *Biochem J* **265**: 731-734.

- (7) BRAND, M.D.; STEVERDING, D.; KADENBACH, B.; STEVENSON, P.M., HAFNER, R.P. (1992): The mechanism of the increase in mitochondrial proton permeability induced by thyroid hormones. *Eur J Biochem* **206**: 775-781.
- (8) LOMBARDI, A.; LANNI, A.; MORENO, M.; BRAND, M.D., GOGLIA, F. (1998): Effect of 3,5-di-iodo-L-thyronine on the mitochondrial energy-transduction apparatus. *Biochem J* **330**: 521-526.
- (9) TOUBRO, S.; SORENSEN, T.I.; RONN, B.; CHRISTENSEN, N.J., ASTRUP, A. (1996): Twenty-four-hour energy expenditure: the role of body composition, thyroid status, sympathetic activity, and family membership. *J Clin Endocrinol Metab* **81**: 2670-2674.
- (10) ASTRUP, A.; BUEMANN, B.; TOUBRO, S.; RANNERIES, C., RABEN, A. (1996): Low resting metabolic rate in subjects predisposed to obesity: a role for thyroid status. *Am J Clin Nutr* **63**: 879-883.
- (11) AL-ADSANI, H.; HOFFER, L.J., SILVA, J.E. (1997): Resting energy expenditure is sensitive to small dose changes in patients on chronic thyroid hormone replacement. *J Clin Endocrinol Metab* **82**: 1118-1125.
- (12) TAGLIAFERRI, M.; BERSELLI, M.E.; CALO, G.; MINOCCI, A.; SAVIA, G.; PETRONI, M.L.; VIBERTI, G.C., LIUZZI, A. (2001): Subclinical hypothyroidism in obese patients: relation to resting energy expenditure, serum leptin, body composition, and lipid profile. *Obes Res* **9**: 196-201.
- (13) WARTOFSKY, L., BURMAN, K.D. (1982): Alterations in thyroid function in patients with systemic illness: the «euthyroid sick syndrome». *Endocr Rev* **3**: 164-217.
- (14) TIBALDI, J.M., SURKS, M.I. (1985): Animal models of nonthyroidal disease. *Endocr Rev* **6**: 87-102.
- (15) O'MARA, B.A.; DITTRICH, W.; LAUTERIO, T.J., ST GERMAIN, D.L. (1993): Pre-translational regulation of type I 5'-deiodinase by thyroid hormones and in fasted and diabetic rats. *Endocrinology* **133**: 1715-1723.
- (16) ALÁEZ, C.; CALVO, R.; OBREGÓN, M.J., PASCUAL-LEONE, A.M. (1992): Thyroid hormones and 5'-deiodinase activity in neonatal undernourished rats. *Endocrinology* **130**: 773-779.
- (17) KATZEFF, H.L., DANFORTH, E. JR. (1989): Decreased thermic effect of a mixed meal during overnutrition in human obesity. *Am J Clin Nutr* **50**: 915-921.
- (18) LEVINE, J.A.; EBERHARDT, N.L., JENSEN, M.D. (1999): Role of nonexercise activity thermogenesis in resistance to fat gain in humans. *Science* **283**: 212-214.
- (19) AILHAUD, G.; GRIMALDI, P., NEGREL, R. (1992): Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annu Rev Nutr* **12**: 207-233.
- (20) CLAFFEY, K.P.; WILKISON, W.O., SPIEGELMAN, B.M. (1992): Vascular endothelial growth factor. Regulation by cell differentiation and activated second messenger pathways. *J Biol Chem* **267**: 16317-16322.
- (21) GABRIELSSON, B.G.; JOHANSSON, J.M.; JENNISCHE, E.; JERNAS, M.; ITOH, Y.; PELTONEN, M.; OLBERS, T.; LONN, L.; LONROTH, H.; SJOSTROM, L.; CARLSSON, B.;

- CARLSSON, L.M., LONN, M. (2002): Depot-specific expression of fibroblast growth factors in human adipose tissue. *Obes Res* **10**: 608-616.
- (22) DOBSON, D.E.; KAMBE, A.; BLOCK, E.; DION, T.; LU, H.; CASTELLOT, J.J. JR., SPIEGELMAN, B.M. (1990): 1-Butyryl-glycerol: a novel angiogenesis factor secreted by differentiating adipocytes. *Cell* **61**: 223-230.
- (23) WILKISON, W.O.; CHOY, L., SPIEGELMAN, B.M. (1991): Biosynthetic regulation of monobutyryl, an adipocyte-secreted lipid with angiogenic activity. *J Biol Chem* **266**: 16886-16891.
- (24) SPIEGELMAN, B.M.; FRANK, M., GREEN, H. (1983): Molecular cloning of mRNA from 3T3 adipocytes. Regulation of mRNA content for glycerophosphate dehydrogenase and other differentiation-dependent proteins during adipocyte development. *J Biol Chem* **258**: 10083-10089.
- (25) HUNT, C.R.; RO, J.H.; DOBSON, D.E.; MIN, H.Y., SPIEGELMAN, B.M. (1986): Adipocyte P2 gene: developmental expression and homology of 5'-flanking sequences among fat cell-specific genes. *Proc Natl Acad Sci USA* **83**: 3786-3790.
- (26) COOK, K.S.; MIN, H.Y.; JOHNSON, D.; CHAPLINSKY, R.J.; FLIER, J.S.; HUNT, C.R., SPIEGELMAN, B.M. (1987): Adipsin: a circulating serine protease homolog secreted by adipose tissue and sciatic nerve. *Science* **237**: 402-405.
- (27) WHITE, R.T.; DAMM, D.; HANCOCK, N.; ROSEN, B.S.; LOWELL, B.B.; USHER, P.; FLIER, J.S., SPIEGELMAN, B.M. (1992): Human adipsin is identical to complement factor D and is expressed at high levels in adipose tissue. *J Biol Chem* **267**: 9210-9213.
- (28) HU, E.; LIANG, P., SPIEGELMAN, B.M. (1996): AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* **271**: 10697-10703.
- (29) WEISBERG, S.P.; MCCANN, D.; DESAI, M.; ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R.L., FERRANTE, A.W., JR. (2003): Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* **112**: 1796-1808.
- (30) GARCÍA-JIMÉNEZ, C.; HERNÁNDEZ, A.; OBREGÓN, M.J., SANTISTEBAN, P. (1993): Malic enzyme gene expression in differentiating brown adipocytes: regulation by insulin and triiodothyronine. *Endocrinology* **132**: 1537-1543.
- (31) YUBERO, P.; MANCHADO, C.; CASSARD, D.A.; MAMPEL, T.; VINAS, O.; IGLESIAS, R.; GIRALT, M., VILLARROYA, F. (1994): CCAAT/enhancer binding proteins alpha and beta are transcriptional activators of the brown fat uncoupling protein gene promoter. *Biochem Biophys Res Commun* **198**: 653-659.
- (32) CARMONA, M.C.; IGLESIAS, R.; OBREGÓN, M.J.; DARLINGTON, G.J.; VILLARROYA, F., GIRALT, M. (2002): Mitochondrial biogenesis and thyroid status maturation in brown fat require CCAAT/enhancer-binding protein alpha. *J Biol Chem* **277**: 21489-21498.
- (33) TONTONOV, P.; KIM, J.B.; GRAVES, R.A., SPIEGELMAN, B.M. (1993): ADD1: a novel helix-loop-helix transcription factor associated with adipocyte determination and differentiation. *Mol Cell Biol* **13**: 4753-4759.

- (34) TONTONOV, P.; HU, E.; GRAVES, R.A.; BUDAVARI, A.I., SPIEGELMAN, B.M. (1994): mPPAR gamma 2: tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes Dev* **8**: 1224-1234.
- (35) PUIGSERVER, P.; WU, Z.; PARK, C.W.; GRAVES, R.; WRIGHT, M., SPIEGELMAN, B.M. (1998): A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* **92**: 829-839.
- (36) BJORNTORP, P. (1992): Abdominal fat distribution and the metabolic syndrome. *J Cardiovasc Pharmacol.* 20 (Suppl. 8): 526-528.
- (37) RICQUIER, D.; NECHAD, M., MORY, G. (1982): Ultrastructural and biochemical characterization of human brown adipose tissue in pheochromocytoma. *J Clin Endocr Metabol* **54**: 803-807.
- (38) CANNON, B.; CONNOLLY, E.; OBREGÓN, M.J., NEDERGAARD, J. (1988): Perinatal activation of brown adipose tissue. In *The Endocrine Control of the fetus*, 306-320, Kunzel, W. J.A.e. (eds.), Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg.
- (39) LORENZO, M.; VALVERDE, A.M.; TERUEL, T., BENITO, M. (1993): IGF-I is a mitogen involved in differentiation-related gene expression in fetal rat brown adipocytes. *J Cell Biol* **123**: 1567-1575.
- (40) BUKOWIECKI, L.; COLLET, A.J.; FOLLEA, N.; GUAY, G., JAHJAH, L. (1982): Brown adipose tissue hyperplasia: a fundamental mechanism of adaptation to cold and hyperphagia. *Am J Physiol* **242**: E353-359.
- (41) BUKOWIECKI, L.J.; GÉLOËN, A., COLLET, A.J. (1986): Proliferation and differentiation of brown adipocytes from interstitial cells during cold acclimation. *Am. J. Physiol* **250**: C880-C887.
- (42) BRONNIKOV, G.; HOUSTEK, J., NEDERGAARD, J. (1992): beta-adrenergic, cAMP-mediated stimulation of proliferation of brown fat cells in primary culture. Mediation via beta 1 but not via beta 3 adrenoceptors. *J Biol Chem* **267**: 2006-2013.
- (43) GARCÍA, B., OBREGÓN, M.J. (1997): Norepinephrine potentiates the mitogenic effect of growth factors in quiescent brown preadipocytes: relationship with uncoupling protein messenger ribonucleic acid expression. *Endocrinology* **138**: 4227-4233.
- (44) GARCÍA-JIMÉNEZ, C.; HERNÁNDEZ, A.; OBREGÓN, M.J., SANTISTEBAN, P. (1993): Malic enzyme gene expression in differentiating brown adipocytes: regulation by insulin and triiodothyronine. *Endocrinology* **132**: 1537-1543.
- (45) HERNÁNDEZ, A.; GARCÍA-JIMÉNEZ, C.; SANTISTEBAN, P., OBREGÓN, M.J. (1993): Regulation of malic-enzyme-gene expression by cAMP and retinoic acid in differentiating brown adipocytes. *Eur J Biochem* **215**: 285-290.
- (46) PÉREZ-CASTILLO, A.; HERNÁNDEZ, A.; PIPAON, C.; SANTOS, A., OBREGÓN, M.J. (1993): Multiple regulation of S14 gene expression during brown fat differentiation. *Endocrinology* **133**: 545-552.
- (47) CARNEHEIM, C.; NEDERGAARD, J., CANNON, B. (1984): Beta-adrenergic stimulation of lipoprotein lipase in rat brown adipose tissue during acclimation to cold. *Am J Physiol* **246**: E327-333.

- (48) RICQUIER, D.; BOULLAUD, F.; TOUMELIN, P.; MORY, G.; BAZIN, R.; ARCH, J., PENICAUD, L. (1986): Expression of uncoupling protein messenger RNA in thermogenic or weakly thermogenic brown adipose tissue: Evidence for a rapid β -adrenoreceptor-mediated and transcriptionally regulated step during activation of thermogenesis. *J Biol Chem* **261**: 13905-13910.
- (49) NAGASE, I.; YOSHIDA, T.; KUMAMOTO, K.; UMEKAWA, T.; SAKANE, N.; NIKAMI, H.; KAWADA, T., SAITO, M. (1996): Expression of uncoupling protein in skeletal muscle and white fat of obese mice treated with thermogenic beta 3-adrenergic agonist. *J Clin Invest* **97**: 2898-2904.
- (50) KOZAK, U.C.; KOPECKY, J.; TEISINGER, J.; ENERBACK, S.; BOYER, B., KOZAK, L.P. (1994): An upstream enhancer regulating brown-fat-specific expression of the mitochondrial uncoupling protein gene. *Mol Cell Biol* **14**: 59-67.
- (51) CASSARD-DOULCIER, A.M.; GELLY, C.; FOX, N.; SCHREMENTI, J.; RAIMBAULT, S.; KLAUS, S.; FOREST, C.; BOULLAUD, F., RICQUIER, D. (1993): Tissue-Specific and beta-Adrenergic Regulation of the Mitochondrial Uncoupling Protein Gene - Control by cis-Acting Elements in the 5'-Flanking Region. *Molecular Endocrinology* **7**: 497-506.
- (52) SILVA, J.E., RABELO, R. (1997): Regulation of the uncoupling protein gene expression. *Eur J Endocrinol* **136**: 251-264.
- (53) OBREGÓN, M.J.; PITAMBER, R.; JACOBSSON, A.; NEDERGAARD, J., CANNON, B. (1987): Euthyroid status is essential for the perinatal increase in thermogenin mRNA in brown adipose tissue of rat pups. *Biochem Biophys Res Commun* **148**: 9-14.
- (54) OBREGÓN, M.J.; CALVO, R.; HERNÁNDEZ, A.; ESCOBAR DEL REY, F., MORREALE DE ESCOBAR, G. (1996): Regulation of uncoupling protein messenger ribonucleic acid and 5'-deiodinase activity by thyroid hormones in fetal brown adipose tissue. *Endocrinology* **137**: 4721-4729.
- (55) RABELO, R.; SCHIFMAN, A.; RUBIO, A.; SHENG, X., SILVA, J.E. (1995): Delineation of thyroid hormone-responsive sequences within a critical enhancer in the rat uncoupling protein gene. *Endocrinology* **136**: 1003-1013.
- (56) GUERRA, C.; RONCERO, C.; PORRAS, A.; FERNÁNDEZ, M., BENITO, M. (1996): Triiodothyronine induces the transcription of the uncoupling protein gene and stabilizes its mRNA in fetal rat brown adipocyte primary cultures. *Journal of Biological Chemistry* **271**: 2076-2081.
- (57) MEDINA-GÓMEZ, G.; HERNÁNDEZ, A.; CALVO, R.M.; MARTÍN, E., OBREGÓN, M.J. (2003): Potent thermogenic action of triiodothyroacetic acid in brown adipocytes. *Cell Mol Life Sci* **60**: 1957-1967.
- (58) SPIEGELMAN, B.M. (1998): PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes* **47**: 507-514.
- (59) LEAN, M.E.J.; JAMES, W.P.T.; JENNINGS, G., TRAYHURN, P. (1986): Brown adipose tissue uncoupling protein content in human infants, children and adults. *Clin Sci* **7**: 291.

- (60) GARRUTI, G., RICQUIER, D. (1992): Analysis of uncoupling protein and its mRNA in adipose tissue deposits of adult humans. *Int J Obes Relat Metab Disord* **16**: 383-390.
- (61) HOUSTEK, J.; VIZEK, K.; PAVELKA, S.; KOPECKY, J.; KREJCOVA, E.; HERMANSKA, J., CERMAKOVA, M. (1993): Type-II Iodothyronine 5'-Deiodinase and Uncoupling Protein in Brown Adipose Tissue of Human Newborns. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **77**: 382-387.
- (62) KRIEF, S.; LONNQVIST, F.; RAIMBAULT, S.; BAUDE, B.; VAN, S.A.; ARNER, P.; STROBERG, A.D.; RICQUIER, D., EMORINE, L.J. (1993): Tissue distribution of beta 3-adrenergic receptor mRNA in man. *J Clin Invest* **91**: 344-349.
- (63) CASSARDOULCIER, A.M.; BOUILLAUD, F.; CHAGNON, M.; GELLY, C.; DIONNE, F.T.; OPPERT, J.M.; BOUCHARD, C.; CHAGNON, Y., RICQUIER, D. (1996): The Bcl I polymorphism of the human uncoupling protein (ucp): gene is due to a point mutation in the 5'-flanking region. *International Journal of Obesity* **20**: 278-279.
- (64) LONCAR, D. (1991): Convertible adipose tissue in mice. *Cell Tissue Res* **266**: 149-161.
- (65) ASTRUP, A. (1986): Thermogenesis in human brown adipose tissue and skeletal muscle induced by sympathomimetic stimulation. *Acta Endocrinol Suppl* **278**: 1-32.
- (66) DULLOO, A.G.; SEYDOUX, J., GIRARDIER, L. (1991): Peripheral Mechanisms of Thermogenesis Induced by Ephedrine and Caffeine in Brown Adipose Tissue. *International Journal of Obesity* **15**: 317-326.
- (67) LOWELL, B.B.; V, S.S.; HAMANN, A.; LAWITTS, J.A.; HIMMS-HAGEN, J.; BOYER, B.B.; KOZAK, L.P., FLIER, J.S. (1993): Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature* **366**: 740-742.
- (68) ENERBACK, S.; JACOBSSON, A.; SIMPSON, E.M.; GUERRA, C.; YAMASHITA, H.; HARPER, M.E., KOZAK, L.P. (1997): Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese [see comments]. *Nature* **387**: 90-94.
- (69) KOPECKY, J.; HODNY, Z.; ROSSMEISL, M.; SYROVY, I., KOZAK, L.P. (1996): Reduction of dietary obesity in aP2-Ucp transgenic mice: physiology and adipose tissue distribution. *Am J Physiol* **270**: E768-775.
- (70) FLEURY, C.; NEVEROVA, M.; COLLINS, S.; RAIMBAULT, S.; CHAMPIGNY, O.; LEVI, M.C.; BOUILLAUD, F.; SELDIN, M.F.; SURWIT, R.S.; RICQUIER, D., WARDEN, C.H. (1997): Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia [see comments]. *Nat Genet* **15**: 269-272.
- (71) BOSS, O.; SAMEC, S.; PAOLONI, G.A.; ROSSIER, C.; DULLOO, A.; SEYDOUX, J.; MUZZIN, P.; GIACOBINO, J.P. (1997): Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *Febs Lett* **408**: 39-42.
- (72) SOLANES, G.; VIDAL, P.A.; GRUJIC, D.; FLIER, J.S., LOWELL, B.B. (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.

- (73) FLIER, J.S., LOWELL, B.B. (1997): Obesity research springs a proton leak [news; comment]. *Nat Genet* **15**: 223-224.
- (74) RICQUIER, D., BOUILLAUD, F. (2000): The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. *Biochem J* **345**: 161-179.
- (75) CARMONA, M.C.; VALMASEDA, A.; BRUN, S.; VINAS, O.; MAMPEL, T.; IGLESIAS, R.; GIRALT, M., VILLARROYA, F. (1998): Differential regulation of uncoupling protein-2 and uncoupling protein-3 gene expression in brown adipose tissue during development and cold exposure. *Biochem Biophys Res Commun* **243**: 224-228.
- (76) MILLET, L.; VIDAL, H.; ANDREELLI, F.; LARROUY, D.; RIOU, J.P.; RICQUIER, D.; LAVILLE, M., LANGIN, D. (1997): Increased uncoupling protein-2 and -3 mRNA expression during fasting in obese and lean humans. *J Clin Invest* **100**: 2665-2670.
- (77) SURWIT, R.S.; WANG, S.; PETRO, A.E.; SANCHIS, D.; RAIMBAULT, S.; RICQUIER, D., COLLINS, S. (1998): Diet-induced changes in uncoupling proteins in obesity-prone and obesity-resistant strains of mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**: 4061-4065.
- (78) VIDAL-PUIG, A.; SOLANES, G.; GRUJIC, D.; FLIER, J.S., LOWELL, B.B. (1997): UCP3: an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* **235**: 79-82.
- (79) GONG, D.W.; 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.
- (80) LARKIN, S.; MULL, E.; MIAO, W.; PITTNER, R.; ALBRANDT, K.; MOORE, C.; YOUNG, A.; DENARO, M., BEAUMONT, K. (1997): Regulation of the third member of the uncoupling protein family, UCP3, by cold and thyroid hormone. *Biochem Biophys Res Commun* **240**: 222-227.
- (81) ARSENIJEVIC, D.; ONUMA, H.; PECQUEUR, C.; RAIMBAULT, S.; MANNING, B.S.; MIROUX, B.; COUPLAN, E.; ALVES-GUERRA, M.C.; GOUBERN, M.; SURWIT, R.; BOUILLAUD, F.; RICHARD, D.; COLLINS, S., RICQUIER, D. (2000): Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. *Nat Genet* **26**: 435-439.
- (82) GONG, D.W.; MONEMDJOU, S.; GAVRILOVA, O.; LEON, L.R.; MARCUS-SAMUELS, B.; CHOU, C.J.; EVERETT, C.; KOZAK, L.P.; LI, C.; DENG, C.; HARPER, M.E., REITMAN, M.L. (2000): Lack of obesity and normal response to fasting and thyroid hormone in mice lacking uncoupling protein-3. *J Biol Chem* **275**: 16251-16257.
- (83) VIDAL-PUIG, A.J.; GRUJIC, D.; ZHANG, C.Y.; HAGEN, T.; BOSS, O.; IDO, Y.; SZCZEPANIK, A.; WADE, J.; MOOTHA, V.; CORTRIGHT, R.; MUOIO, D.M., LOWELL, B.B. (2000): Energy metabolism in uncoupling protein 3 gene knockout mice. *J Biol Chem* **275**: 16258-16266.
- (84) CLAPHAM, J.C.; ARCH, J.R.; CHAPMAN, H.; HAYNES, A.; LISTER, C.; MOORE, G.B.; PIERCY, V.; CARTER, S.A.; LEHNER, I.; SMITH, S.A.; BEELEY, L.J.; GODDEN, R.J.; HERRITY, N.; SKEHEL, M.; CHANGANI, K.K.; HOCKINGS, P.D.; REID, D.G.; SQUIRES,

- S.M.; HATCHER, J.; TRAIL, B.; LATCHAM, J.; RASTAN, S.; HARPER, A.J.; CADENAS, S.; BUCKINGHAM, J.A.; BRAND, M.D., ABUIN, A. (2000): Mice overexpressing human uncoupling protein-3 in skeletal muscle are hyperphagic and lean. *Nature* **406**: 415-418.
- (85) ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L., FRIEDMAN, J.M. (1994): Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* **372**: 425-432.
- (86) PELLEYMOUNTER, M.A.; CULLEN, M.J.; BAKER, M.B.; HECHT, R.; WINTERS, D.; BOONE, T., COLLINS, F. (1995): Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice [see comments]. *Science* **269**: 540-543.
- (87) HALAAS, J.L.; GAJIWALA, K.S.; MAFFEI, M.; COHEN, S.L.; CHAIT, B.T.; RABINOWITZ, D.; LALLONE, R.L.; BURLEY, S.K., FRIEDMAN, J.M. (1995): Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* **269**: 543-546.
- (88) SINHA, M.K., CARO, J.F. (1998): Clinical aspects of leptin. *Vitam Horm* **54**: 1-30.
- (89) MONTAGUE, C.T.; FAROOQI, I.S.; WHITEHEAD, J.P.; SOOS, M.A.; RAU, H.; WAREHAM, N.J.; SEWTER, C.P.; DIGBY, J.E.; MOHAMMED, S.N.; HURST, J.A.; CHEETHAM, C.H.; EARLEY, A.R.; BARNETT, A.H.; PRINS, J.B., O'RAHILLY, S. (1997): Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* **387**: 903-908.
- (90) TARTAGLIA, L.A.; DEMBSKI, M.; WENG, X.; DENG, N.; CULPEPPER, J.; DEVOS, R.; RICHARDS, G.J.; CAMPFIELD, L.A.; CLARK, F.T.; DEEDS, J., et al. (1995): Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* **83**: 1263-1271.
- (91) FRIEDMAN, J.M. (1998): Leptin, leptin receptors, and the control of body weight. *Nutr Rev* **56**: s38-46; discussion s54-75.
- (92) ZHOU, Y.T.; SHIMABUKURO, M.; KOYAMA, K.; LEE, Y.; WANG, M.Y.; TRIEU, F.; NEWGARD, C.B., UNGER, R.H. (1997): Induction by leptin of uncoupling protein-2 and enzymes of fatty acid oxidation. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**: 6386-6390.
- (93) ORCI, L.; COOK, W.S.; RAVAZZOLA, M.; WANG, M.Y.; PARK, B.H.; MONTESANO, R., UNGER, R.H. (2004): Rapid transformation of white adipocytes into fat-oxidizing machines. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**: 2058-2063.
- (94) LOWELL, B.B., SPIEGELMAN, B.M. (2000): Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature* **404**: 652-660.