

Edición en español de:  
Laboratory Animals (2008) 42, 413-432

# Laboratory Animals

THE INTERNATIONAL JOURNAL OF  
LABORATORY ANIMAL SCIENCE AND WELFARE

## Contribución de los modelos animales al estudio de la obesidad

John Speakman, Catherine Hambly, Sharon Mitchell y Elżbieta Król

Aberdeen Centre for Energy Regulation and Obesity, School of Biological Sciences,  
University of Aberdeen, Aberdeen AB24 2TZ, UK

**Este artículo ha sido traducido por:** D<sup>a</sup> Clara Martínez Nistal

**Revisado por:** Dr. José Luís Martín Barrasa

**Coordinador:** D. Jesús Martínez Palacio

Editado por:



Publicación patrocinada por:



*Nuestro agradecimiento al Consejo de Dirección de Laboratory Animals Ltd. por el patrocinio y colaboración en esta traducción.*

# Contribución de los modelos animales al estudio de la obesidad

John Speakman, Catherine Hambly, Sharon Mitchell y Elbieta Król

Aberdeen Centre for Energy Regulation and Obesity, School of Biological Sciences, University of Aberdeen, Aberdeen AB24 2TZ, UK

*Correspondence: J Speakman.*

*Email: j.speakman@abdn.ac.uk*

*Accepted 17 October 2007*

## Resumen

La obesidad es el resultado de un desequilibrio prolongado entre el consumo y el gasto de energía. Los modelos animales han contribuido de manera fundamental al desarrollo histórico de la comprensión de los procesos básicos que regulan nuestro equilibrio energético. Se han empleado cinco tipos diferentes de modelos animales en el estudio de las bases fisiológicas y genéticas de la obesidad. El primer modelo refleja mutaciones monogénicas que han aparecido de forma espontánea en colonias de roedores, y consecuentemente se han caracterizado. El segundo consiste en aumentar el índice de mutaciones aleatorias de forma artificial, tratando a los roedores con mutágenos o exponiéndolos a radiación. El tercer modelo son ratones y ratas en los que un gen específico ha sido alterado o sobreexpresado deliberadamente. Estas alteraciones manipuladas genéticamente pueden generarse por todo el cuerpo y durante toda la vida (manipulaciones transgénicas globales) o restringirse a un periodo de tiempo y a un determinado tejido o tipo celular. En estos casos, hay dos tipos de situaciones que permiten nuevos descubrimientos: cuando se tiene como objetivo un gen específico que se piensa que tiene una función en la regulación del equilibrio energético, y cuando se altera un gen con un propósito diferente, pero la consecuencia es un inesperado fenotipo obeso o delgado. Un cuarto grupo de modelos animales abarca experimentos donde se ha utilizado la cría selectiva para obtener cepas de roedores que difieren en su grado de acumulación grasa. Por último, se han hecho estudios de otras especies que incluyen primates no humanos y perros. Junto con los estudios de las bases genéticas y fisiológicas de la obesidad, los estudios de modelos animales nos han informado sobre los aspectos ambientales de esta condición. Los estudios en este contexto incluyen el análisis de las respuestas de los animales a dietas altas en grasas o altas en grasas y en azúcares (dieta de cafetería), investigaciones sobre los efectos de la restricción dietética en la masa corporal y la pérdida de peso, y por último, estudios sobre el impacto de fármacos potenciales sobre algunos componentes del equilibrio energético. A pesar de la existencia de todos estos trabajos, aún quedan muchas lagunas en el conocimiento sobre la regulación de la composición corporal y el almacenamiento de energía, y una necesidad constante de desarrollar fármacos para tratar la obesidad. Por consiguiente, la reducción del uso de modelos animales, aunque éticamente deseable, no será viable a corto o a medio plazo, e incluso se prevé un aumento de la actividad investigadora que implica la utilización de modelos animales, ya que la epidemia de obesidad continúa y se expande geográficamente.

**Palabras clave:** obesidad; modelos animales; genética; modificaciones genéticas; dieta; restricción calórica.

Está plenamente aceptado que la obesidad proviene de un desequilibrio prolongado entre el nivel de consumo y el gasto de energía, almacenándose el excedente que resulta en forma de lípidos corporales, principalmente en forma de tejido adiposo. Comprender los factores que re-

gulan tanto el consumo como el gasto de energía es por tanto un paso importante en el desarrollo de tratamientos para la obesidad, ya sean modificaciones ambientales/de estilo de vida o fármacos. Nuestros conocimientos sobre la regulación del consumo de alimento y el comportamiento en

la elección de alimento y la base fisiológica de las diferencias en el gasto de energía, se debe en gran parte a los estudios realizados en animales. En los últimos 15 años se han hecho espectaculares progresos en esta área, en particular desde el descubrimiento de la leptina, hormona citoquina, derivada de los adipocitos (Zhang *et al.* 1994) y su receptor (Tartaglia *et al.* 1995, Lee *et al.* 1996), ambos descubiertos mediante la caracterización del defecto genético en ratones mutantes (ratones *ob/ob* y *db/db*) que apareció espontáneamente en los Laboratorios Jackson en los años 40 y 50 (Ingall *et al.* 1950, Hummel *et al.* 1966). El descubrimiento de la leptina desencadenó una explosión de actividad en el campo de la regulación de energía (reseñado en Schwartz *et al.* 2000, Morton *et al.* 2006), siendo este descubrimiento, en su totalidad, resultado del trabajo con animales. Sin embargo, la importancia crítica de utilizar modelos animales para entender las regulaciones del consumo de energía y el equilibrio energético es de varias décadas anteriores al descubrimiento de la leptina. Algunos ejemplos clave son el descubrimiento de la insulina, hormona reguladora pancreática, a principios del siglo pasado (Banting & Best 1922), que fue en gran parte el resultado del trabajo con perros; señales de saciedad provenientes del intestino como el péptido YY (PYY) (Adrian *et al.* 1985) y la colecistoquinina (CCK) (Gibbs *et al.* 1973), ambos descubiertos mucho antes que la leptina mediante el trabajo con animales. Además, los modelos animales han contribuido no sólo a nuestro conocimiento de las bases fisiológicas y genéticas de la obesidad, sino que han sido pieza clave en estudios sobre los efectos ambientales, tales como la epigenética, respuestas a dietas altas en grasas y bajas en calorías, y la identificación y desarrollo de varios agentes farmacéuticos para el tratamiento de la obesidad. Este trabajo proporcionará algunos ejemplos del trabajo con animales que se ha realizado para entender las bases genéticas y fisiológicas de la obesidad. También nos referiremos a factores ambientales, centrándonos en diferentes aproximaciones que se han empleado al trabajar con animales, en lugar de pretender hacer un resumen exhaustivo de todo el trabajo que se ha llevado a cabo en este campo. Un estudio anterior (West & York 1998) ha resumido los enfoques animales en el

estudio de dietas altas en grasas, y en consecuencia daremos menos énfasis a este aspecto. El estudio termina con una evaluación de la posibilidad de reducir el uso animal para el estudio de la obesidad.

## Bases fisiológicas y genéticas de la obesidad

### *Mutaciones espontáneas con pérdida de la funcionalidad en un único gen*

Los ratones *ob/ob* (Zhang *et al.* 1994) y *db/db* (Bahary *et al.* 1990) y la rata Zucker obesa (*fa/fa*) (Zucker & Zucker 1961) son casos clásicos de las mutaciones espontáneas de pérdida de función en un único gen que generan obesidad masiva. Al caracterizar las bases genéticas de las mutaciones se reveló que el defecto en los ratones *ob/ob* se debe a la supresión de un único par de bases, y al producto génico se le dio el nombre de leptina (Zhang *et al.* 1994). Las mutaciones de *db/db* y ratas *fa/fa* resultaron ser mutaciones en el receptor de leptina. En la actualidad, se conocen al menos 10 defectos por pérdida de función en un único gen que causen obesidad masiva y hayan sido completamente caracterizados genéticamente. En todos los casos en los que se han descubierto estos defectos, estos provienen inicialmente de mutaciones espontáneas en grandes centros de producción. Los mutantes de un único gen son normalmente detectados por expertos observadores, y confirmados más tarde, cuando exhiben su alteración genética. El desarrollo de técnicas de secuenciación de alto rendimiento y la conclusión de los genomas del ratón y la rata en los primeros años del nuevo milenio han ayudado a que el tiempo entre el descubrimiento de un nuevo mutante y su caracterización se reduzca considerablemente, y a que progresivamente se vaya acortando aún más.

Sin embargo, hay una aleatoriedad inherente en el descubrimiento de defectos en un único gen, lo que significa que los genes con ningún o mínimo efecto en el heterocigoto tienen una menor posibilidad de ser descubiertos (Crawley 2003). Además, la detección de únicamente los principales defectos genéticos implica que casi por definición estos defectos afectarán únicamente a una mínima proporción de la población, como fue el caso del ratón *ob/ob* y el gen leptina. Aunque este descubrimiento supuso un gran avance, los cribados genéticos en

la población humana han mostrado que un ínfimo número de individuos tienen mutaciones por pérdida de función en este gen (Farooqi & O'Rahilly 2005). Esto también sucede con todos los demás genes que se han descubierto como defectos espontáneos en un único gen y caracterizados genética y funcionalmente (Rankinen *et al.* 2006).

El auténtico progreso que aporta el estudio de estos genes es que permite avanzar en nuestros conocimientos sobre el funcionamiento del sistema de regulación energética. De hecho, muchos de estos genes alterados que pertenecen a este grupo de mutaciones únicas espontáneas, parecen estar involucrados en un patrón común que incluye la leptina y la insulina como moléculas señalizadoras. Para aumentar nuestro conocimiento de este patrón han sido cruciales los estudios de caracterización de estos defectos espontáneos "por pérdida de función en un único gen".

#### *Mutaciones con pérdida de función en un único gen, generadas de forma artificial*

La arbitrariedad con la que mutaciones espontáneas resultan en pérdidas de función importantes en genes críticos ha llevado a intentos de acelerar el proceso mediante el aumento artificial de los niveles de mutación. Esto se consigue tratando a los animales con sustancias químicas mutagénicas o exponiéndolos a radiación (Russell & Russell 1992, Dhar *et al.* 2000, 2004, Gailus-Durner *et al.* 2005). Ya que estas mutagénesis no son totalmente dirigidas, los resultados son alteraciones arbitrarias distribuidas por todo el genoma que se transmiten a la descendencia. Los animales generados en estos experimentos no sólo muestran o ilustran la regulación de energía, sino muchos otros aspectos de las funciones animales. Un programa de trabajo con mutagénesis en Alemania ha dado como resultado la identificación de un ratón con alteraciones en el receptor de la hormona de crecimiento (SMA-1). Estos animales tienen alguna relevancia en el estudio de la obesidad, ya que su fenotipo implica un cuerpo pequeño debido a la limitación del crecimiento, junto con un aumento importante en la cantidad de tejido adiposo (Meyer *et al.* 2004).

El principal problema de esta técnica es que, aunque es relativamente fácil inducir mutaciones artificiales y aleatorias en animales, es extremadamente costoso fenotipar a la descendencia resultante de estos animales a una escala razonable. Dado que

el genoma del ratón se compone de alrededor de 25.000-30.000 genes, y dado que una mutación concreta puede producir solamente un efecto de pérdida de función en el 3-5% de los casos (el resto de mutaciones produce efectos benignos en el tercer codón o modificaciones que no alteran la secuencia de aminoácidos, o si la alteran no son funcionales), descubrir el efecto de pérdida de función en un gen concreto requeriría la fenotipificación de más de medio millón de individuos. Medir solamente una vez el peso corporal de este número de animales resultaría prohibitivo. Por lo tanto, estos estudios han aportado un mínimo progreso a los conocimientos sobre la regulación de energía, un fenotipo mucho más complejo de caracterizar que el peso corporal.

#### *Modificaciones genéticas*

Se ha creado un gran número de modelos transgénicos y knockout (KO) con fenotipos obesos y delgados desde la caracterización de los primeros genes de la obesidad (Inui 2000, Salton *et al.* 2000). La actualización en 2005 del mapa genético de la obesidad humana citaba 248 genes que, cuando son mutados o expresados como transgenes en el ratón, resultan en fenotipos que afectan al peso corporal y a la cantidad de tejido adiposo (Rankinen *et al.* 2006). La capacidad de introducir o eliminar genes en la línea germinal de los animales ha facilitado el desarrollo de complejos modelos genéticos de enfermedad, así como el estudio *in vivo* de las funciones genéticas. Las investigaciones sobre la obesidad han sido un reto debido a su compleja etiología en lo que se refiere a los factores genéticos, metabólicos, de comportamiento y ambientales. La investigación utilizando modelos animales, genéticamente modificados, de obesidad y delgadez ha llevado a una importante expansión de nuestro conocimiento sobre los mecanismos fisiológicos y moleculares que afectan al equilibrio energético. Esto es útil para la identificación de dianas potenciales para el desarrollo de terapias frente a la obesidad humana.

Con las tecnologías tradicionales de transgénesis, desarrolladas entre finales de los años 80 y los años 90, había poco control sobre cuántas copias de genes, y dónde, eran introducidas en el genoma. Sin embargo, ahora existe una gran abundancia de sofisticadas técnicas para actuar sobre el gen, lo que permite a los investigadores manipular el genoma de forma que es posible efectuar prácticamente cualquier cambio en él. Además, avanzadas técnicas

permiten controlar alteraciones del genoma que sólo actúan en un momento concreto, o que tienen constructos que se expresan sólo en tejidos específicos (Davey & MacLean 2006).

La sobreexpresión de los genes diana fue la primera técnica que se utilizó de forma amplia. La secuencia de codificación completa del gen es clonada corriente abajo desde un promotor que puede proporcionar expresión global o específica de un tejido, resultando en una descendencia transgénica que sobreexpresa el gen diana. Aunque es una técnica bastante sencilla y barata, el nivel de expresión de genes y proteínas no siempre tiene un efecto fisiológico. Los modelos globales murinos KO son más predecibles y más reproducibles que los de sobreexpresión. Aquí, el fenotipo es creado a partir de la eliminación total del gen diana en todos los tejidos, y estos ratones KO pueden utilizarse para la identificación de muchos factores implicados en el desarrollo. De estos modelos KO resultan a menudo acciones imprevistas de los genes diana que, aunque a veces son perjudiciales, resultando por ejemplo en malformaciones embrionarias, pueden en muchos casos permitir descubrimientos inesperados sobre las funciones de dichos genes.

Un ejemplo de un descubrimiento inesperado desarrollado a partir de un KO transgénico es el ratón *axl*, desarrollado originalmente para determinar si el receptor tirosina quinasa, *axl*, tenía algún papel en la leucemia. Como se esperaba, este ratón no exhibía ningún tumor hematopoyético, pero casualmente, las características fenotípicas exhibidas estaban asociadas con diabetes mellitus no dependiente de insulina. El ratón *axl* presenta hiperglucemia e hiperinsulinemia, severa resistencia a la insulina y obesidad progresiva, pero no polifagia (Agustine *et al.* 1999). Posteriores análisis de estos animales *axl* revelaron elevaciones sistémicas del factor de necrosis tumoral alfa (TNF  $\alpha$ ), que también ha demostrado ser elevado tanto en modelos animales de obesidad, como en humanos (Yamakawa *et al.* 1995, Katsuki *et al.* 1998), lo que sugiere que la expresión de *axl* afecta a la modulación endógena de la producción de TNF  $\alpha$ , que a su vez contribuye de forma indirecta al desarrollo de la obesidad.

Además de los modelos KO globales y sobre un tejido específico, la modificación genética también comprende modelos “knock-in”, que reemplazan el gen endógeno por una mutación. Los ratones knock-

in tienen la capacidad de jugar un papel más específico y pueden usarse para determinar los efectos de cambios leves en la estructura o función de las proteínas. Se han utilizado como modelo para enfermedades humanas o para determinar la significación funcional de patrones de señalización de un receptor particular. Por ejemplo, los ratones *s/s* creados por Bates *et al.* (2003) se desarrollaron para investigar el papel de las señales de leptina individuales mediante la introducción de una mutación knock-in que alteraba el patrón de señalización intracelular dominante a través del que se creía que la leptina tenía su principal función (el patrón STAT3). La ausencia de la forma larga del receptor de leptina (ObRb), como en el caso de los ratones *db/db*, da lugar a obesidad y diabetes. Se halló que los ratones *s/s* presentaban similitudes con los *db/db*, al mostrar un desarrollo temprano de la obesidad, caracterizado por polifagia y niveles elevados de leptina e insulina, lo que sugiere resistencia a la leptina. Sin embargo, la restricción calórica normalizaba el control glucémico en los ratones *s/s*, que mostraban una mejora en la resistencia a la insulina y la intolerancia a la glucosa. En consecuencia, los ratones transgénicos *s/s* han contribuido a un estudio más profundo de la obesidad y la diabetes (Bates *et al.* 2005).

Un problema clave con los ratones KO es la posibilidad de que el gen provoque la muerte prematura del embrión, imposibilitando el estudio de sus efectos en adultos. Un problema menos obvio es que una manipulación genética que tenga efecto durante toda la vida puede forzar a los animales a hacer cambios compensatorios a lo largo de su desarrollo. Por lo tanto, el que normalmente es un gen clave en el proceso de la regulación energética puede en apariencia tener muy poca importancia cuando ha sido eliminado porque un mecanismo compensatorio se ha hecho cargo de sus funciones. Uno de estos casos es el gen del neuropéptido Y (NPY). Cuando se introduce de forma directa en el cerebro, este neuropéptido es uno de los estimuladores más potentes del comportamiento alimentario. Además, cuando los animales son privados de comida, los niveles naturales de NPY aumentan, mientras que en los animales saciados disminuyen (Lin *et al.* 2004). Sin embargo, cuando se eliminó el NPY, los ratones resultantes no mostraban un fenotipo anómalo obvio (Erickson *et al.* 1996a,b, Palmiter *et al.* 1998). El sistema Cre/loxP es una herramienta para los KO histoespecíficos y tiempo específicos

de genes objetivo, que permite la investigación de dichos genes. Este sistema se compone de dos líneas transgénicas separadas, una que expresa Cre recombinasa (Cre) y otra en la que las secuencias de reconocimiento de Cre recombinasa (loxP) están estratégicamente posicionadas a cada lado del gen objetivo. Cuando Cre se expresa en ratones que albergan un gen diana que contiene loxP, se elimina el gen deseado. Dependiendo de la especificidad del tejido y el tiempo de expresión de la recombinasa, estas modificaciones pueden verse restringidas a ciertos tipos celulares o estadios del desarrollo (Kuhn & Torres 2002).

Algunos ejemplos del uso del sistema Cre/loxP incluyen su uso para crear ratones con trastornos histoespecíficos en el receptor de la insulina: en el tejido muscular (MIRKO) (Bruning *et al.* 1998), en las células  $\beta$  (BIRKO) (Kulkarni *et al.* 1999), en el tejido hepático (LIRKO) (Michael *et al.* 2000) y en el tejido adiposo (FIRKO) (Bluher *et al.* 2002). El ratón FIRKO presenta una baja masa adiposa, pérdida de la relación normal entre la leptina plasmática y el peso corporal y aparece protegido contra la obesidad relacionada con la edad y la inducida por lesión hipotalámica. Resulta interesante que, manteniendo niveles normales de ingesta alimenticia, estos ratones también demuestran tener muchas características similares a los ratones sometidos a restricciones calóricas, incluyendo una vida más larga que la de las líneas salvajes.

Los estudios sobre animales genéticamente modificados no sólo han aumentado nuestros conocimientos sobre la regulación de la ingesta de alimento y el equilibrio energético, sino que también han tenido un papel clave en el aumento de nuestros conocimientos sobre la relación entre la obesidad y enfermedades como la diabetes y el síndrome metabólico. Por ejemplo, la rata con obesidad de comienzo tardío (llamada LOB, *late-onset obesity rat*) fue descubierta como resultado de manipulaciones transgénicas que en origen se habían creado para investigar la expresión de la hormona de crecimiento en el sistema vasopresina (Wells *et al.* 2003). Al compararlo con mutaciones espontáneas más clásicas, se encontraron varias diferencias en este modelo transgénico. Primero, la mutación era autosómica dominante, desarrollando obesidad de forma tardía, al contrario que la mayoría de las mutaciones, que son recesivas con obesidad de aparición temprana. En prácticamente todos los modelos,

la obesidad es manifiesta en todos los depósitos de grasa, mientras que los machos de rata LOB, la grasa se acumula de forma selectiva en depósitos viscerales, pero no periféricos, como a veces ocurre en los humanos. Además, al contrario que muchos otros modelos que presentan polifagia, la obesidad se manifestaba a pesar del consumo normal de una dieta baja en grasas, que curiosamente podía iniciarse en ratas LOB jóvenes administrando una dieta elevada en grasas. De nuevo en contraste con la mayoría de los modelos que muestran resistencia a la insulina, las ratas LOB mantenían la sensibilidad a la insulina a pesar de presentar una obesidad visceral masiva (Hummel *et al.* 1966, Coleman & Hummel 1967), lo que proporciona un valioso modelo para la investigación de enfermedades relacionadas con la obesidad.

Varios estudios han sugerido que aunque la obesidad predispone a varias enfermedades, no es la masa adiposa total sino la grasa abdominal excesiva el mejor indicador de las consecuencias metabólicas adversas, tales como la resistencia a la insulina, la intolerancia a la glucosa y la dislipidemia, asociada con el síndrome metabólico X (Montague & O'Rahilly 2000). Para examinar esta relación más a fondo, se han estudiado modificaciones genéticas de las dos formas del  $11\beta$ -hidroxiesteroide dehidrogenasa ( $11\beta$ -HSD). En contraste con el  $11\beta$ -HSD tipo 2, que inactiva los glucocorticoides, el  $11\beta$ -HSD tipo 1 regenera esta acción. Los ratones que sobre-expresaban  $11\beta$ -HSD-1 (Masuzaki *et al.* 2001, Masuzaki & Flier 2003) mostraban síntomas del síndrome metabólico similares a los observados en humanos, por ejemplo obesidad visceral, resistencia a la leptina e insulina, dislipidemia e hipertensión (Rask 2001), mientras que los ratones sin ninguna mutación en el gen  $11\beta$ -HSD-1 mostraban un fenotipo resistente a la diabetes y resistencia a la acumulación de grasa visceral y a la insulina (Kotelevtsev 1997, Holmes 2001).

#### *Modelos poligénicos*

Es obvio que en la mayoría de las circunstancias la obesidad y sus precursores energéticos relacionados son normalmente rasgos multifactoriales o poligénicos, que resultan de la acción combinada de muchos genes e interacciones ambientales. En los humanos, las mutaciones monogénicas son de limitada importancia cuando consideramos el aumento de la epidemia de obesidad, ya que sólo son aplicables a unos

pocos casos en la población obesa. A la vista de estas evidencias, varios programas de investigación se han centrado en localizar la base poligénica de la obesidad, y muchos de ellos han empleado modelos animales. A pesar de que a menudo el fenotipo de un animal se mide fácilmente, la identificación de los genes que se encuentran bajo un rasgo puede ser un trabajo laborioso. Sin embargo, comparado con estudios con humanos, el empleo de modelos animales es muchas veces más rápido, ya que las técnicas mejoradas y algunos métodos más agresivos (como por ejemplo la disección corporal completa) permiten una descripción precisa del fenotipo. Además, se ha mejorado la capacidad de detectar loci de carácter cuantitativo (QTL) utilizando modelos animales, gracias al mayor tamaño de las familias y la estructura genealógica más controlada y formalizada. Aunque se han utilizado varios modelos animales, tales como ratas (Watanabe *et al.* 1999), pollos (Jennen *et al.* 2005) y cerdos (Andersson *et al.* 1994), el ratón es la especie de modelo genético más común, y recientes avances para determinar su mapa genético han incrementado aún más su uso. Normalmente, el mapa molecular se compone de más de 6500 marcadores microsatélite basados en la reacción en cadena de la polimerasa (Dietrich *et al.* 1996). Dado que el ratón presenta una gran homología con otras especies de mamíferos, su uso para la localización de loci genéticos es valiosísimo.

A la hora de localizar regiones del genoma responsables de fenotipos de obesidad poligénica, el mapeo de QTL es una valiosa herramienta que rastrea el genoma de un organismo para buscar asociaciones estadísticas entre información fenotípica y los marcadores. Los QTL mapeados pueden ser el resultado de genes individuales o de un número de loci relacionados. Hasta la fecha, se han localizado más de 200 QTL de la obesidad en el ratón, aunque muchos de ellos están en la misma región cromosómica y podrían, por lo tanto, representar el mismo o los mismos genes (Snyder *et al.* 2004). Los QTL son detectados normalmente en entrecruzamientos de individuos pertenecientes a la generación  $F_2$ , que se consiguen con más éxito mediante el uso de dos poblaciones basales de animales que muestren grandes diferencias significativas en el rasgo en cuestión. Muchos rasgos relacionados con la obesidad son altamente hereditarios y por lo tanto la selección de los dos genotipos extremos (elevado y bajo) dentro de una línea lleva a características divergentes (Sharp *et*

*al.* 1984). Las líneas divergentes son posteriormente cruzadas para producir una población  $F_1$  y después cruzada entre hermanos para producir una población  $F_2$  endogámica, que típicamente exhibe una amplia variación fenotípica entre individuos (Pomp 1997). La información genotípica y fenotípica de marcadores moleculares se utiliza para determinar asociaciones estadísticas entre el fenotipo y áreas del genoma, localizando QTL. Una ventaja clave de esta técnica es que no requiere ningún conocimiento previo sobre la naturaleza biológica del rasgo sometido a examen (Fisler & Warden 1997).

Los rasgos relacionados con la obesidad que se han seleccionado de forma divergente a lo largo de muchas generaciones incluyen la masa corporal (White *et al.* 1968, Hastings *et al.* 1993, Bünger & Hill 1999), composición corporal (Sharp *et al.* 1984, Hastings & Hill 1989), nivel de ingesta (Sharp *et al.* 1984) pérdida de calor (Nielsen *et al.* 1997a,b) y actividad espontánea (Swallow *et al.* 2001). Una lista detallada de aquellos en los que ha tenido lugar el mapeo de QTL está disponible en Brockmann y Bevova (2002). La mayoría de los QTL tienen sólo un pequeño efecto, sin embargo, otros contribuyen de manera más significativa. Por ejemplo, *Fob2* explica el 19,5% de variabilidad en las líneas de ratón seleccionadas por el porcentaje de grasa corporal (Horvat *et al.* 2000).

En algunos casos se requiere intervención ambiental, al exponer a los ratones a una dieta elevada en grasas, para revelar propensión o resistencia a la obesidad en líneas seleccionadas o cepas endogámicas. Por ejemplo, las líneas seleccionadas por Sharp *et al.* (1984) para consumo elevado y bajo de alimento, muestran resistencia a la obesidad cuando se les administra una dieta elevada en grasa mediante la reducción de la ingesta de alimento para mantener el mismo consumo de energía que cuando se les administraba una dieta baja en grasa (Hambly *et al.* 2005). Por el contrario, existen cepas endogámicas de ratones que presentan una elevada tendencia a la obesidad, por ejemplo, C57BL/6J (York *et al.* 1996, Johnston *et al.* 2006). Mediante el cruzamiento de variedades que son propensas y resistentes a la obesidad, pueden localizarse QTL que caracterizan obesidad inducida por la dieta y que están estrechamente unidos a la condición humana.

Aunque el uso de las técnicas de mapeo QTL a menudo localiza nuevos genes candidatos para rasgos de la obesidad que se convierten en objetivos

para los estudios genéticos con humanos, las investigaciones están lejos de concluir. Deben utilizarse todavía muchas nuevas líneas seleccionadas y variedades endogámicas de ratón, y explorarse su posible asociación con la obesidad inducida por la dieta.

#### *Estudios de otras especies*

**Primates no humanos** Aunque los roedores son los modelos animales más comunes para la investigación de la obesidad (ver antes) la separación de los linajes del primate y el roedor es una divergencia relativamente antigua en los mamíferos euterios (hace 65-85 millones de años, Eizirik *et al.* 2001). Sin embargo, la separación entre los hominoideos (humanos y demás grandes simios) y los cercopitécidos (monos del Viejo Mundo) tuvo lugar más recientemente (aproximadamente hace 25 millones de años, Page & Goodman 2001). Dada esta estrecha relación filogenética con los humanos, los primates del Viejo Mundo (tales como macacos, monos rhesus y babuinos) pueden proporcionar un modelo más apropiado para el estudio de la obesidad humana y co-morbilidades relacionadas. (West & York 1998, Wagner *et al.* 2006). Varias especies de primates muestran una predisposición a la obesidad relacionada con la edad en un 10-15%, aunque se les mantenga en una dieta relativamente baja en grasas (10-15% de la energía) (Kemnitz 1984). Esto no parece ser una consecuencia de la reducción de actividad física debido a su retención en jaulas, ya que un patrón similar se ha detectado en primates libres en una isla a los que se les ha proporcionado alimento extra (Kemnitz 1984). La mayoría del interés por el estudio de primates no humanos y obesidad se ha centrado en sus respuestas a dietas elevadas en grasas y efectos epigenéticos (véase más abajo bajo efectos ambientales). Sin embargo, los estudios sobre mecanismos cerebrales del peso corporal y el control de la ingesta de alimento han sido relativamente limitados (pero véase por ejemplo Koutcherov *et al.* 2003, Grove *et al.* 2005).

**Perros** Los perros domésticos han sufrido su propia epidemia de obesidad, que tal vez sea incluso más extrema que la observada en humanos. A mediados de los años 80, entre el 25 y el 40% de los perros presentados en clínicas veterinarias eran clasificados como obesos (Hand *et al.* 1989). Esta epidemia se ha convertido en un grave problema

veterinario. Hasta ahora, los estudios con perros (por ejemplo Romsos *et al.* 1976, 1978, Rocchini *et al.* 1989, Diez *et al.* 2002, Martin *et al.* 2006) se han centrado principalmente en la etiología de la obesidad en estos animales como un problema en sí mismo. Sin embargo, tienen un claro potencial para ser un modelo de estudio de la obesidad humana, principalmente porque existe una extensa literatura sobre la fisiología del perro, y su genoma ya ha sido mapeado (Lindblad-Toh *et al.* 2005). Contamos con tal vez los mejores datos patológicos disponibles para cualquier especie después de la humana, y las diferentes razas se presentan en las clínicas con probabilidades y patrones de obesidad con probabilidades muy diferentes (Edney & Smith 1986), lo que proporciona una oportunidad de esclarecer la contribución genética a este problema.

Este potencial uso de los perros para informarnos de la obesidad en humanos debería desarrollarse a lo largo de la década venidera.

**Modelos estacionales de obesidad** Muchos mamíferos pequeños presentan ciclos anuales de peso corporal y acumulación de tejido adiposo (por ejemplo Heldmaier & Steinlechner 1981, Stebbins 1984, Bartness & Wade 1985, Klingenspor *et al.* 1996, Bartness *et al.* 2002, Drazen 2002). La mayoría de los roedores se basan en los cambios en la duración del día para provocar estas respuestas (Dark *et al.* 1983, Mrosovsky 1983, Bartness *et al.* 2002), lo que puede imitarse en el laboratorio al transferir a los animales de fotoperiodos de día largo (DL) a día corto (DC). Esto hace a los mamíferos estacionales atractivos para la investigación de los mecanismos que subyacen a la regulación de la masa corporal (Mercer & Speakman 2001, Bartness *et al.* 2002, Morgan *et al.* 2003b).

Los ciclos estacionales de acumulación de grasa han sido estudiados fundamentalmente en el hámster ruso (*Phodopus sungorus*), el hámster sirio o dorado (*Mesocricetus auratus*) y el Lemin de collar (*Dicroxtonyx groenlandicus*). En el hámster ruso, ambos sexos presentan una masa corporal (y acúmulo adiposo) máxima en verano (Steinlechner & Heldmaier 1982, Bartness & Goldman 1988). La transferencia de hámsteres adultos machos (mantenidos a temperatura convencional de animalario) de DL (ciclos de 16 horas de luz) a DC (8 horas de luz) da lugar a una pérdida de peso gra-



dual acompañada de un consumo de alimento reducido. Después de 12-18 semanas, los hámsteres pierden aproximadamente el 30-40% de su masa corporal inicial, con más de la mitad de ella atribuida a la movilización de reservas de grasa (Ebling 1994, Bartness 1996, Klingenspor *et al.* 2000, Mercer *et al.* 2000, 2001). Se han demostrado cambios estacionales similares en los hámsteres europeos (*Cricetus cricetus*, Canguilhem *et al.* 1988), *Mincetus montanus* (Petterborg 1978), *Microtus pennsylvanicus* (Dark & Zucker 1984), *Microtus oeconomus* (Wang & Wang 1996), *Clethrionomys glareolus* Peacock *et al.* 2004) y *Microtus agrestis* (Król *et al.* 2005, 2006, 2007, Król & Speakman 2007).

Por el contrario, los hámsteres sirios y lemmings de collar presentan su masa corporal máxima en invierno (Bartness & Wade 1985). En respuesta a los DC, los hámsteres adultos hembras a las que se mantiene a temperatura ambiente, convencional de animalario, aumentan su masa corporal en un 50-60% aproximadamente en un periodo de ocho semanas, sin un aumento concomitante de la ingesta de alimento (Campbell & Tabor 1983). En los lemmings con collar, los machos destetados en DC crecen hasta alcanzar una masa corporal adulta de 75 g, un 88% superior a la de los machos destetados en DL (Reynolds & Lavigne 1989, Hunter & Nagy 2002), donde la diferencia era en su mayoría grasa (Nagy & Negus 1993, Nagy 1993). Se han hecho considerables progresos en la comprensión de los mecanismos cerebrales que regulan los ciclos estacionales de masa corporal en las especies que aumentan de peso al ser manipuladas en DL o DC. Sin embargo, este trabajo se ha desarrollado en gran parte a través de estudios previos en ratones. Hasta la fecha, los estudios de roedores estacionales no han proporcionado ningún descubrimiento nuevo que no resultase ya evidente en los estudios extensivos sobre ratones.

## Estudios animales de efectos ambientales

### *Exposición a dietas de alta palatabilidad y elevadas en grasa*

Una hipótesis para explicar la rapidez con que se ha extendido la epidemia de obesidad en los humanos es la posibilidad de que nuestros sistemas reguladores se vean sobrepasados por alimentos apetitosos de alta densidad y elevados en grasa, cuya disponi-

bilidad ha aumentado en los últimos 20-30 años. En los roedores, se han hecho muchos estudios que han tratado de caracterizar las respuestas de los animales expuestos a dietas altas en grasas y azúcares. El trabajo inicial en esta área se basó en la alimentación de ratas con dietas tipo "cafetería", que favorecen la polifagia (por ejemplo Rothwell & Stock 1982, Stock & Rothwell 1982, Rothwell *et al.* 1983). Un problema con estos estudios es que la composición de macronutrientes real de la dieta puede ser muy variable, lo que impide el aislamiento de factores dietéticos clave que podrían ser importantes. Debido a ello, estas dietas de tipo "humano" se han sustituido por dietas comerciales más homogéneas, "altas en grasas" y "occidentales", que permiten llevar un control más exhaustivo de la composición nutricional. Este trabajo ya ha sido extensamente revisado con anterioridad (West & York 1998), por lo que aquí nos dedicaremos a él en menor medida. Los estudios más exhaustivos han utilizado roedores y primates no humanos, aunque también se han realizado en otras especies como hámsteres (Wade 1982), ardillas (Faust & Mrosovsky 1987, Dark *et al.* 1992), cerdos (Pond *et al.* 1985), perros (Romsos *et al.* 1976, 1978) y ovejas (Tolkamp *et al.* 1007). Se han observado dos tipos de respuesta cuando a los animales se les administran dietas altas en grasas o en azúcares: algunas especies y razas ganan peso, pero otras no. Este patrón se ha observado tanto en primates no humanos como en roedores. En primates no humanos, por ejemplo, Ausman *et al.* (1981) alimentó monos ardilla con dietas altas en grasas y en azúcares (21-31% de la energía proveniente de grasas), o bien con una dieta baja en grasas y azúcares que contenía un 13% de grasa, desde el destete hasta la edad de cuatro años. A esta edad, los que habían sido alimentados con la dieta alta en grasas y en azúcares tenían un 30% de grasa corporal, en contraste con el 7% de los alimentados con una dieta baja en grasas y azúcares. Por el contrario, los monos capuchinos no se hicieron obesos al consumir la dieta elevada en grasas y azúcares (Ausman *et al.* 1981). Del mismo modo, en los roedores, algunas especies y cepas muestran un gran aumento de la grasa corporal como respuesta a una dieta alta en grasas y azúcares (por ejemplo el ratón C57BL/6, Surwit *et al.* 1988), por lo que se les da el nombre de roedores con obesidad inducida por la dieta (DIO). Muchos estudios han empleado los roedores DIO para examinar la regulación del consumo de

alimento en condiciones de alto consumo de grasas como modelo de la obesidad humana, en un intento de comprender por qué muchos humanos expuestos a estas dietas también se convierten en obesos. Por el contrario, algunas cepas de ratón (Hambly *et al.* 2005) y roedores salvajes, mantenidos en su totalidad en cautiverio (hámster ruso, *Phodopus sungorus* McElroy *et al.* 1986, *Meriones shawi* El-bakry *et al.* 1999, *Clethrionomys glareolus* Peacock & Speakman 2001), parecen ser resistentes al aumento de peso cuando se les alimenta con dietas altas en grasas. A estos ratones y ratas se les ha dado el nombre de cepas resistentes a la dieta (DR).

Se han realizado muchos estudios que examinan las respuestas a una dieta elevada en grasas y de alta palatabilidad con las ratas *outbred* Sprague-Dawley (Levin & Dunn-Meynell 2002). Estos animales exogámicos presentan diversas respuestas que incluyen muchos animales con un aumento excesivo (DIO) y otros que muestran un perfil DR (Levin & Keeseey 1998, Levin & Dunn-Meynell 2000). Levin *et al.* (1997) han derivado líneas *imbred* de los más resistentes y los más susceptibles a desarrollar obesidad, y han dedicado un considerable esfuerzo a identificar los aspectos que pueden subyacer a las diferencias fisiológicas entre estas líneas (especialmente en el cerebro) (Ricci & Levin 2003) y en la genética (utilizando mapeo de QTL). Esto puede llevarnos a descubrir por qué unos individuos desarrollan obesidad y otros no.

Una de las principales diferencias entre estos diseños experimentales y la situación en los humanos es que un gran aspecto de la susceptibilidad de los humanos a la obesidad puede no depender de la facultad de resistir al aumento de peso cuando son forzados a alimentarse con una dieta alta en grasas, sino que puede más bien, depender de las diferencias individuales en la predisposición a elegir, en primer lugar, alimentos ricos en grasas. Relativamente pocos estudios han explorado este aspecto del comportamiento de elección en modelos animales (Smith *et al.* 1998, 2000). Se han hecho dos tipos de estudios diferentes a este respecto. Unos, se centran en el papel de los neuropéptidos cerebrales en la elección de macronutrientes, mientras que otros se han centrado en los aspectos periféricos de los sistemas olfativos y del gusto. El trabajo sobre los neuropéptidos ha subrayado el hecho de que los niveles de expresión de ciertos neuropéptidos puede estar ligado al consumo de la dieta (Schwartz *et al.* 2000).

Uno de estos neuropéptidos es la galanina (GAL), que puede estar implicada en la preferencia por la grasa (Crawley 1999, Odorizzi *et al.* 2002), aunque su papel ha sido altamente cuestionado con varios estudios que no mostraban cambios en la elección de macronutrientes en animales tratados con GAL (Smith *et al.* 1994, 1997). También existe una fuerte correlación positiva entre el consumo diario de glúcidos y el nivel de NPY en los núcleos arcuato y paraventricular (Jhanwar-Uniyal *et al.* 1993). En el campo de los estudios de la preferencia de sabor, las variedades endogámicas muestran diferencias muy amplias en su preferencia por el agua con sabor dulce, lo que sugiere que tal vez haya diferencias significativas entre individuos en su predisposición a seleccionar diferentes alimentos debido a variaciones polimórficas en sus receptores del gusto. Este enfoque podría ser mucho más productivo para la investigación si lo comparamos con los modelos en los que los animales son alimentados a la fuerza con una dieta alta en grasas, sin posibilidad de elección, ya que los humanos rara vez se encuentran en esta situación.

#### *Efectos epigenéticos*

Una hipótesis reciente de gran popularidad concerniente no sólo a la obesidad, sino a muchos aspectos de nuestra salud adulta, es que nuestra susceptibilidad a la enfermedad puede ser programada durante el periodo de nuestras vidas que pasamos *in utero*. Esta hipótesis se ha llamado a menudo la hipótesis "Barker" por el primer científico que caracterizó la potencial relación entre los patrones de la última etapa de la vida y el peso al nacer de los humanos (Barker 1992, 1994). Mediante la caracterización en los Países Bajos de la salud de adultos cuyas madres habían sufrido un periodo de hambruna durante la segunda Guerra Mundial, comparados con niños que habían nacido en los periodos inmediatamente anteriores y posteriores a la hambruna, se ha obtenido un gran apoyo experimental para esta hipótesis en humanos (Ravelli *et al.* 1998, Roseboom *et al.* 2001, Painter *et al.* 2005). Esta es un área en la que se ha descubierto un fenómeno relacionado con la obesidad en modelos humanos antes que en animales. Los efectos *in utero* también son llamados a menudo efectos epigenéticos, porque pueden ser difíciles de separar de los efectos genéticos. Aunque este fenómeno fue descubierto por primera vez en humanos, los modelos animales proporcio-

nan una herramienta muy valiosa para el estudio de los mecanismos mediante los que se manifiestan dichos efectos epigenéticos. Los animales presentan dos claras ventajas. Primero, sería éticamente inaceptable imponer restricciones deliberadas en fetos humanos, y las posibilidades de monitorización serían también muy limitadas. Además, el periodo durante el que se manifiestan los efectos, que abarca la mitad de la vida, resultaría imposible de estudiar. Se han hecho estudios animales tanto en primates no humanos como en roedores. En los babuinos, la exposición a una dieta de alta densidad y alta en grasas durante el periodo anterior al destete mediante la manipulación de la fórmula del biberón, condujo a un aumento significativo de la grasa corporal a la edad de cinco años (Lewis *et al.* 1989). Sin embargo, se trataba de una característica dependiente del sexo, ya que sólo las hembras de babuino presentaban consecuencias de una sobrealimentación temprana. Se han realizado muchos estudios de intervención en ratas y ratones que incluyen cambios en el número intrauterino de fetos (Nagasawa & Yanai 1971) o manipulaciones de la nutrición fetal mediante ligadura de la placenta (resumido en Holemans *et al.* 2003). La naturaleza doble de los cuernos uterinos de los roedores facilita la restricción selectiva del aporte de nutrientes para la mitad de la camada, y de este modo obtener individuos de control que no hayan sufrido restricciones generados dentro del mismo individuo. Durante la lactancia puede también haber efectos de programación neonatal, y aquí la manipulación del tamaño de la camada es un método conveniente para regular el aporte de nutrientes a la descendencia, afectando al crecimiento de las crías. Si los roedores tienen mucha descendencia, la madre es incapaz de aumentar de forma proporcional el aporte de nutrientes en la leche, y por lo tanto las crías en camadas grandes están relativamente desnutridas (Fuchs 1982, Johnson *et al.* 2001). Pueden darse efectos similares cuando la lactancia tiene lugar en condiciones de alta temperatura ambiental (Król & Speakman 2003).

Una diferencia entre los roedores y los primates no humanos es el patrón de desarrollo temprano del núcleo arcuato (ARC) y otros circuitos hipotalámicos que regulan la alimentación y el gasto de energía. En concreto, las proyecciones ARC en primates se desarrollan durante el tercer trimestre de la gestación, mientras que en los roedores no tiene lugar hasta la

tercera semana de desarrollo postnatal (Koutcherov *et al.* 2003, Grove *et al.* 2005). Estas diferencias entre especies sugieren que la dieta y salud maternas sean tal vez factores cruciales en el desarrollo de proyecciones ARC en primates, mientras que factores postnatales ambientales serán más importante en los roedores. Por lo tanto, el modelo de obesidad de los primates no humanos proporcionará descubrimientos más importantes sobre la contribución epigenética de la obesidad adulta, diabetes de tipo 2, enfermedades cardíacas coronarias e hipertensión. No obstante, las consecuencias de estas restricciones fetales y neonatales en roedores parecen imitar la situación hallada en humanos, ya que las crías que son infraalimentadas a una edad temprana parecen ser las que más tarde desarrollan problemas de salud en la edad adulta. Aparte de documentar que este problema existe en animales y que podría ser un buen modelo para entender el mecanismo que produce los mismos efectos en humanos, el progreso en este campo ha sido más bien lento. Podemos esperar un avance considerable en este campo a lo largo de la próxima década.

#### *Respuestas a dietas hipocalóricas y de otro tipo para la pérdida de peso*

La restricción calórica es el tratamiento más frecuente para la obesidad, tanto auto prescrito como prescrito clínicamente. A pesar de su popularidad, el éxito a largo plazo de la restricción calórica es limitado. Esto se debe principalmente a dos factores: primero, la pérdida de peso resulta progresivamente más difícil a medida que continua la dieta y, segundo, el peso perdido se recupera normalmente al acabar la dieta. En los humanos, esta discontinuidad en la pérdida de peso puede ser uno de los principales factores que llevan al incumplimiento de la dieta. Los estudios directos sobre respuestas humanas a las dietas afrontan la dificultad de medir el consumo de energía humano (Poppitt *et al.* 1998). Los animales proporcionan una alternativa ideal por lo fácil que resulta caracterizar su administración energética.

Existen dos mecanismos potenciales que pueden explicar por qué la pérdida de peso no continúa bajo la restricción calórica. Primero, puede que haya un aumento en la eficiencia digestiva para extraer más energía del alimento ingerido. Alternativamente, puede que algunos aspectos del gasto de energía se reduzcan, por ejemplo suprimiendo el gasto de energía durante el descanso, temperatura corporal o acti-

vidad. La contribución de estos diferentes mecanismos ha sido objeto de un intenso debate. Al parecer, los mecanismos compensatorios adoptados y su alcance pueden depender de los niveles de restricción que se establezcan (Hill *et al.* 1984, Even & Nicolaidis 1993, Hambly & Speakman 2005). Sin embargo, se ha observado un patrón común para las reducciones en el gasto de energía tanto en el descanso como durante la actividad.

La razón principal por la que los humanos se someten a la restricción energética es reducir la grasa corporal, aunque junto con la pérdida de grasa se pierde también algo de masa muscular. Los modelos de roedores pueden utilizarse para calcular la proporción de masa muscular perdida por cantidad de grasa, lo que dependerá en gran medida de sus proporciones iniciales o en la composición genética de la cepa de que se trate. Las diferencias en el tejido adiposo son la principal causa del aumento de la masa corporal en ratas Sprague-Dawley DIO comparadas con las DR (Levin *et al.* 1997). Cuando ambas se someten a restricciones del 50% de consumo de alimento *ad libitum*, ambos fenotipos pierden una proporción similar de peso, pero las ratas DIO reducen su tejido graso, mientras que las DR pierden principalmente masa muscular (Levin & Dunn-Meynell 2000). El mapeo de QTL de estas ratas, como se explicó anteriormente, puede localizar los loci responsables de la pérdida de tejido en la restricción dietética.

Además de la restricción calórica, se han sugerido muchas otras manipulaciones dietéticas para provocar la pérdida de peso. Las más comunes son dietas que implican la ingesta restringida de glúcidos, a la vez que aumentan el consumo de proteínas dietéticas. Estas dietas parecen promover una rápida pérdida de peso. Aunque los beneficios a corto plazo son fáciles de medir en las poblaciones humanas, los riesgos (o beneficios) a largo plazo son más difíciles de evaluar debido al largo periodo de vida humano. También aquí los modelos animales son de interés, pues su vida es más corta y se pueden utilizar para localizar los mecanismos que se esconden tras la pérdida exitosa de peso utilizando las diferentes dietas y sus potenciales inconvenientes. Por ejemplo, se teme que las dietas bajas en carbohidratos y altas en proteínas puedan causar problemas con las funciones renales y hepáticas por su papel en el metabolismo del nitrógeno. Las ratas Wistar, propensas a la obesidad, fueron alimentadas con una dieta en la que durante seis meses (equivalente a un cuarto de su vida) el

50% de la energía eran proteínas, reduciendo considerablemente su cantidad de tejido adiposo sin mostrar ningún problema de salud que perjudique las funciones renales y hepáticas, estrés oxidativo o equilibrio del calcio (Lacroix *et al.* 2004). Este modelo animal ha sugerido que es poco probable que un consumo prolongado de altas cantidades de proteínas sea perjudicial para los humanos. Estos ejemplos demuestran que, aunque en última instancia las investigaciones basadas en dietas deben centrarse en humanos, se puede obtener información útil adicional de experimentos en los que se utilicen roedores de corta vida.

#### *Desarrollo de fármacos para el tratamiento de la obesidad*

Powell (2006) resaltó el importante papel que los ratones KO podrían jugar en la futura identificación de dianas terapéuticas para el desarrollo de fármacos. Revisó el fenotipo de 21 tipos diferentes de ratones KO donde el gen que se había eliminado era una potencial diana terapéutica para la obesidad. Estos se comparaban con los fenotipos de ratones tratados con fármacos diseñados para las mismas dianas. De los 21 genes de la obesidad que se consideraban, 16 mostraban una estrecha correspondencia entre el fenotipo KO y el efecto del fármaco en ratones y/o ratas. Esto sugiere que, en lo que respecta a la evaluación de fármacos contra la obesidad, los cambios compensatorios del desarrollo que tienen lugar a lo largo de toda la vida del KO normalmente no evitan la detección de fenotipo relevante. Otro descubrimiento importante fue que donde los datos estaban disponibles, los fenotipos KO no sólo imitaban los efectos de los fármacos en roedores, sino también los efectos que se producían cuando fármacos importantes eran administrados a humanos con los mismos genes como dianas. La tecnología transgénica en ratones puede, por tanto, ser una valiosa herramienta para la identificación prospectiva *in vivo* de genes que regulen la grasa corporal, y el posterior desarrollo de fármacos anti-obesidad, actuando sobre las dianas proteicas, productos de estos genes.

Una idea importante que podemos extraer del trabajo de Powell (2006) es que los ratones transgénicos no sólo representan una valiosa herramienta para el desarrollo terapéutico, sino que los fármacos que se diseñan para interferir en los niveles de acumulación de grasa en los roedores suelen también tener los mismos efectos sobre la acumulación de

grasa en humanos. Los roedores seguirán siendo un modelo crucial para la identificación y ensayo de posibles fármacos contra la obesidad. Un ejemplo de una diana terapéutica, identificada en animales, es el desarrollo del antagonista del receptor cannabinoide tipo 1 (CB1), rimonabant, que llevó al desarrollo de una clase de fármacos potenciales contra la obesidad, y que finalmente generó un fármaco utilizable que acaba de terminar de ser sometido a ensayo clínico.

La participación del CB1 en la regulación central del consumo de alimento fue descubierta en animales transgénicos con déficits de este receptor (Cota *et al.* 2003, Ravinet Trillou *et al.* 2004). A la edad de 16 semanas, los animales KO de CB1 alimentados con comida estándar para roedores presentaban una masa corporal un 9% más baja y una materia grasa un 20% menor que el resto de la camada (Cota *et al.* 2003). En un segundo estudio, a la edad de 20 semanas los KO CB1 pesaban un 23% menos y tenían un 60% menos de grasa corporal que el resto de la camada. Los detalles sobre cómo se generaba este efecto parecían implicar no sólo una reducción en la ingesta de alimento, sino también un aumento en el gasto de energía (Ravinet Trillou *et al.* 2004). La implicación del receptor CB1 en la regulación del equilibrio energético sugería, por tanto, que un antagonista de dicho receptor podría ser un valioso fármaco para el tratamiento de la obesidad. Se desarrolló el rimonabant como un antagonista específico del CB1. Al administrarlo a roedores a los que se les había inducido la obesidad a partir de la dieta diariamente durante cinco semanas, la masa corporal de los animales se redujo en un 25% y la materia grasa en un 60% (Ravinet Trillou *et al.* 2003). Mediante la alimentación simultánea de otro grupo de animales en las mismas cantidades que los ratones tratados, se demostró que la pérdida de peso se debía en primer lugar a la supresión del apetito, pero con un pequeño efecto adicional en el gasto de energía. En otro estudio en el que se emplearon ratones DIO, el rimonabant reducía la masa corporal y la materia grasa a través de un efecto sobre el consumo de alimento, pero curiosamente no tenía impacto sobre los ratones transgénicos a los que se les había eliminado el receptor CB1 (Ravinet Trillou *et al.* 2004). Este estudio demostraba que el rimonabant actúa inhibiendo específicamente el receptor C1. El rimonabant también reduce la ingesta de alimento y el aumento de peso tanto en ratas Zucker obesas como en ratas Zucker control (Vickers *et al.* 2003). En las ratas, los

efectos coinciden con los descubrimientos en ratones DIO, excepto en que en las ratas la pérdida de peso era enteramente resultado de la reducción del consumo de alimento.

Tomando como base los resultados positivos de estos estudios animales y la aparente ausencia de cualquier efecto secundario, se inició un ensayo clínico aleatorizado doble ciego de un año, que evaluaba los efectos del rimonabant en la pérdida de peso en más de 1500 humanos con sobrepeso (Van Gaal *et al.* 2005). De acuerdo con los datos de los modelos animales, el rimonabant inducía una pérdida de peso dependiente de la dosis, que difería significativamente de la del grupo placebo. Los pacientes tratados con 20 mg de rimonabant a diario perdieron 5 kg más que aquellos que recibían placebo. Este ejemplo proporciona un caso clásico del uso de conocimiento fundamental derivado de los modelos animales, la utilización de animales como test para el desarrollo farmacéutico, con el ensayo clínico de un fármaco efectivo como fin último. Tales progresos habrían sido imposibles sin el uso de animales para la experimentación.

Por otra parte, por cada logro en materia de desarrollo farmacéutico, hay notables fracasos a la hora de interpretar los descubrimientos de la biología fundamental basados en estudios con animales en fármacos utilizables para humanos. Puede que el caso más obvio en los últimos años haya sido la esperanza de que la leptina en sí misma y las dianas corriente abajo en el sistema de la leptina pudieran desarrollarse como fármacos. Poco después de su primera descripción (Zhang *et al.* 1994), se llevaron a cabo varios estudios en animales que demostraban que el tratamiento con leptina no sólo era efectivo para revertir la obesidad en ratones mutantes *ob/ob*, que carecen de leptina, sino que también reducía (modestamente) el acúmulo de grasa en ratones normales no deficientes en leptina (Pelleymounter *et al.* 1995, Halaas *et al.* 1997). Algo más tarde comenzaron a realizarse ensayos clínicos aleatorizados controlados por placebo, incluyendo un importante ensayo de dosis escalonada (Heymsfield *et al.* 2002). Estos estudios mostraron una pérdida de peso significativa en relación a la dosis de leptina que se administrase. Sin embargo, la magnitud de la pérdida era relativamente modesta (7 kg en el grupo de mayor dosis – 0,3 mg/kg) y se produjeron respuestas inmunitarias de leves a moderadas en las zonas de inyección. Además, la dosis que se requería para generar

este efecto era prohibitivamente cara. Por el contrario, cuando la leptina se administraba a niños con déficits de leptina, la respuesta era espectacular e inmediata, al revertirse el excesivo aumento de peso en un periodo relativamente corto (Farooqi *et al.* 1999, Gibson *et al.* 2004). Este contraste entre las respuestas llevó a la noción de que parte de la patología de la obesidad es la resistencia a la señal de leptina. Si las personas obesas no responden a la leptina exógena es debido a la resistencia a la señal de leptina, se discutió que una mayor intervención corriente abajo podría resolver este problema. Un objetivo clave a este respecto fue el receptor de melanocortina 4 (MC4R), que estudios previos en animales habían establecido corriente abajo en focos neuronales que inicialmente captan la señal de leptina en el ARC (Schwartz *et al.* 2000, Morton *et al.* 2006). Los estudios de ratones a los que se había eliminado el MC4R respaldaban la hipótesis de que este es un componente crítico del sistema regulador del peso corporal (Butler & Cone 2002, 2003), y se sabe que los polimorfismos en este receptor generan el 3-5% de los casos de obesidad mórbida en humanos. El tratamiento de roedores con un antagonista del MC4R llamado MTII producía, como se esperaba, pérdida de peso (Murphy *et al.* 2000, Wirth *et al.* 2001, Hamilton & Dodds 2002). Sin embargo, en humanos, además de la pérdida de peso, el mismo compuesto generaba algunos efectos perjudiciales imprevistos – en concreto producía la erección del pene en los sujetos masculinos y excitación sexual en los femeninos (Hadley 2005). En cuanto a los aspectos positivos, todo ello ha conducido al desarrollo de un nuevo compuesto PT-141 y tratamiento de la disfunción eréctil (Hadley & Dorr 2006). Estos estudios resaltaban el hecho de que, aunque los estudios animales pueden llevarnos en la dirección correcta en términos del desarrollo de terapias contra la obesidad, las diferencias fisiológicas entre ratones y humanos implican que la traslación de los modelos animales en el desarrollo de fármacos nunca es directa. El camino está salpicado tanto de historias de logros como de fracasos.

## Discusión

El uso de modelos animales para estudiar los fenómenos que subyacen a la obesidad (genéticos, fisiológicos, epigenéticos y ambientales), así como las investigaciones de tratamientos potenciales en animales, han proporcionado una enorme cantidad de

información que tiene un impacto tanto directo como indirecto en nuestros conocimientos sobre este campo. Desafortunadamente, el bienestar de cualquier animal al que se somete a la manipulación que desemboca en el desarrollo de obesidad mórbida se ve potencialmente comprometido. Las condiciones ideales de alojamiento, número de animales y prácticas de cría para ratones obesos han sido estudiadas por Good (2005). La salud animal puede verse afectada a medida que la obesidad conduce a la reducción de la movilidad y al aumento de presión en las articulaciones. Como resultado, el pelaje en la superficie del vientre puede desaparecer debido a los desplazamientos del animal por la jaula, y de forma excepcional pueden desarrollarse úlceras por presión en las patas (observación personal). Incluso las intervenciones dietéticas más simples a menudo requieren que los animales permanezcan aislados durante periodos prolongados (semanas o meses) para medir de manera adecuada el consumo de alimento. Aunque a menudo se ha afirmado que este aislamiento produce estrés, el impacto del estrés en el aislamiento se ha cuestionado recientemente (Hunt & Hambly 2006). Además, la obesidad predispone a estos animales a sufrir problemas asociados tales como diabetes (por ejemplo el ratón db/db; Bahary *et al.* 1990), cáncer (Hakkak *et al.* 2005), o el síndrome metabólico (por ejemplo, los que sobreexpresan 11 $\beta$ -HSD-1 presentan resistencia a la insulina y la leptina, dislipidemia e hipertensión; Rask 2001). Cuando las intervenciones farmacéuticas requieren pruebas en animales, los procedimientos a los que se somete al animal a menudo requieren cirugía para administrar el compuesto durante periodos prolongados utilizando una mini bomba o un catéter ICV (por ejemplo Kask *et al.* 1999). Dado que los estudios sobre obesidad están seleccionando de forma activa cepas que sean propensas a estas condiciones o requieran intervención quirúrgica, la probabilidad de que los animales sufran durante este tipo de investigaciones es elevada.

Como suele suceder, aunque los progresos en la utilización de modelos animales para estudiar la regulación energética han sido considerables, la expansión del conocimiento sobre un área normalmente sirve para dar cuenta de lo vasto de nuestra ignorancia. Esto es especialmente cierto en el estudio de la regulación energética y las resultantes modulaciones de almacenamiento de energía. Por lo tanto, a pesar de haber hecho espectaculares

avances en este campo, los modelos de regulación energética siguen siendo relativamente simples y hay considerables lagunas en nuestros conocimientos. Sigue siendo bastante verosímil que haya señales hormonales adicionales de la periferia (como la leptina, la insulina, PYY y CCK), cuya existencia desconocemos por completo en la actualidad. De hecho, muchos estudios se han referido directamente a estas señales (por ejemplo Bünger *et al.* 2001). A pesar de que reducir el número de animales que se emplean en el trabajo experimental es un objetivo loable, aún no nos encontramos en una fase en la que la sustitución de animales por modelos informáticos de regulación energética, o el centrarnos en el trabajo basado en el cultivo celular puedan de forma realista superar al uso de animales vivos en las investigaciones experimentales del equilibrio energético y la obesidad. En consecuencia, es muy poco probable que en un futuro próximo pueda considerarse la reducción del número de animales utilizados en la investigación sobre la obesidad. De hecho, sería deseable un aumento de este tipo de trabajos, ya que nuestro conocimiento comienza a expandirse y los límites de nuestra ignorancia parecen cada vez mejor definidos.

## Referencias

- Adrian TE, Ferri GL, Bacarese-Hamilton AJ, Fuessl HS, Polak JM, Bloom SR (1985) Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology* 89, 1070–7
- Andersson L, Haley CS, Ellegren H, *et al.* (1994) Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science* 263, 1771–4
- Augustine KA, Rossi RM, Van G, *et al.* (1999) Non-insulin-dependent diabetes mellitus occurs in mice ectopically expressing the human Axl tyrosine kinase receptor. *Journal of Cell Physiology* 181, 433–47
- Ausman LM, Rasmussen KM, Gallinam DL (1981) Spontaneous obesity in maturing squirrel monkeys fed semi-purified diets. *American Journal of Physiology* 241, R316–21
- Banting FG, Best CH (1922) Pancreatic extracts. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 7, 464–72
- Barker DJB, ed. (1992) *Fetal and Infant Origins of Adult Disease*. London: BMJ Publishing Group
- Barker DJP (1994) *Mothers, Babies, and Disease in Later Life*. London: BMJ Publishing Group
- Bartness TJ (1996) Photoperiod, sex, gonadal steroids, and housing density affect body fat in hamsters. *Physiology and Behavior* 60, 517–29
- Bartness TJ, Goldman BD (1988) Effects of melatonin on long-day responses in short-day housed adult Siberian hamsters. *American Journal of Physiology* 255, R823–30
- Bartness TJ, Wade GN (1985) Photoperiodic control of seasonal body weight cycles in hamsters. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 9, 599–612
- Bartness TJ, Demas GE, Song CK (2002) Seasonal changes in adiposity: the roles of photoperiod, melatonin and other hormones, and sympathetic nervous system. *Experimental Biology and Medicine* 227, 363–76
- Bates SH, Kulkarni RN, Seifert M, Myers MG Jr (2005) Roles for leptin receptor/STAT3 dependent and independent signals in the regulation of glucose homeostasis. *Cell Metabolism* 1, 169–78
- Bates SH, Stearns WH, Dundon TA, *et al.* (2003) STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction. *Nature* 421, 856–9
- Bluher M, Michael MD, Peroni OD, *et al.* (2002) Adipose tissue selective insulin receptor knockout protects against obesity and obesity-related glucose intolerance. *Developmental Cell* 3, 25–38
- Brockmann GA, Bevova MR (2002) Using mouse models to dissect the genetics of obesity. *Trends in Genetics* 18, 367–76
- Bruning JC, Michael MD, Winnay JN, *et al.* (1998) A muscle-specific insulin receptor knockout exhibits features of the metabolic syndrome of NIDDM without altering glucose tolerance. *Molecular Cell* 2, 559–69
- Bünger L, Hill WG (1999) Inbred lines derived from long-term divergent selection on fat content and body weight. *Mammalian Genome* 10, 645–8
- Bünger L, Laidlaw A, Bulfield G, *et al.* (2001) Inbred lines of mice derived from long-term growth selected lines: unique resources for mapping growth genes. *Mammalian Genome* 12, 678–86
- Butler AA, Cone RD (2002) The melanocortin receptors: lessons from knockout models. *Neuropeptides* 36, 77–84
- Butler AA, Cone RD (2003) Knockout studies defining different roles for melanocortin receptors in energy homeostasis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 994, 240–5
- Campbell CS, Tabor J (1983) Small effect of brown adipose tissue and major effect of photoperiod on body weight in hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Physiology and Behaviour* 30, 349–52
- Canguilhem B, Vaultier J-P, Pevet P, Coumaros G, Masson-Pevet M, Bentz I (1988) Photoperiodic regulation of body mass, food intake, hibernation, and reproduction in intact and castrated European hamsters, *Cricetus cricetus*. *Journal of Comparative Physiology A* 163, 549–57
- Coleman DL, Hummel KP (1967) Studies with themutation, diabetes, in the mouse. *Diabetologia* 3, 238–48

- Cota D, Marsicano G, Tschöp M, et al. (2003) The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *Journal of Clinical Investigation* 112, 423–31
- Crawley JN (1999) The role of galanin in feeding behavior. *Neuropeptides* 33, 369–75
- Crawley JN (2003) Behavioral phenotyping of rodents. *Comparative Medicine* 53, 140–6
- Dark J, Ruby NF, Wade GN, Licht P, Zucker I (1992) Accelerated reproductive development in juvenile male ground squirrels fed a high-fat diet. *American Journal of Physiology* 262, R644–50
- Dark J, Zucker I (1984) Gonadal and photoperiodic control of seasonal body weight changes in male vole. *American Journal of Physiology* 247, R84–8
- Dark J, Zucker I, Wade GN (1983) Photoperiodic regulation of body mass, food intake, and reproduction in the meadow vole (*Microtus pennsylvanicus*). *American Journal of Physiology* 245, R334–8
- Davey RA, MacLean HE (2006) Current and future approaches using genetically modified mice in endocrine research. *American Journal of Physiology and Endocrinology Metabolism*
- Dhar M, Webb LS, Smith L, Hauser L, Johnson D, West DB (2000) A novel ATPase on mouse chromosome 7 is a candidate gene for increased body fat. *Physiological Genomics* 4, 93–100
- Dhar MS, Sommardahl CS, Kirkland T, et al. (2004) Mice heterozygous for *Atp10c*, a putative amphipath, represent a novel model of obesity and type 2 diabetes. *Journal of Nutrition* 134, 799–805
- Dietrich WF, Miller J, Steen R, et al. (1996) A comprehensive genetic map of the mouse genome. *Nature* 380, 149–52
- Diez M, Nguyen P, Jeusette I, Devois C, Istasse L, Biourge V (2002) Weight loss in obese dogs: evaluation of a high-protein, low-carbohydrate diet. *Journal of Nutrition* 132, 1685S–7S
- Drazen DL, Jasnow AM, Nelson RJ, Demas GE (2002) Exposure to short days, but not short-term melatonin, enhances humoral immunity of male Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Journal of Pineal Research* 33, 118–24
- Ebling FJP (1994) Photoperiodic differences during development in the dwarf hamsters, *Phodopus sungorus* and *Phodopus campbelli*. *General and Comparative Endocrinology* 95, 475–82
- Edney AT, Smith PM (1986) Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. *Veterinary Record* 118, 391–6
- El-Bakry HA, Plunkett SS, Bartness TJ (1999) Photoperiod but not a high-fat diet, alters body fat in Shaw's jird. *Physiology and Behaviour* 68, 87–91
- Erickson JC, Clegg KE, Palmiter RD (1996a) Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. *Nature* 381, 415–21
- Erickson JC, Hollopeter G, Palmiter RD (1996b) Attenuation of the obesity syndrome of ob/ob mice by the loss of neuropeptide Y. *Science* 274, 1704–7
- Eizirik E, Murphy WJ, O'Brien SJ (2001) Molecular dating and biogeography of the early placental mammal radiation. *Journal of Heredity* 92, 212–19
- Even PC, Nicolaidis S (1993) Adaptive changes in energy expenditure during mild and severe feed restriction in the rat. *British Journal of Nutrition* 70, 421–31
- Farooqi IS, O'Rahilly S (2005) Monogenic obesity in humans. *Annual Review of Medicine* 56, 443–58
- Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, et al. (1999) Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *New England Journal of Medicine* 341, 879–84
- Faust IM, Mrosovsky N (1987) Resistance to adipocyte hyperplasia in ground squirrels given high-fat diets. *American Journal of Physiology* 253, R576–9
- Fisler JS, Warden CH (1997) Mapping of mouse obesity genes: a generic approach to a complex trait. *Journal of Nutrition* 127, 1909S–16S
- Fuchs S (1982) Optimality of parental investment: the influence of nursing on reproductive success of mother and female young house mice. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 10, 39–51
- Gailus-Durner V, Fuchs H, Becker L, et al. (2005) Introducing the German Mouse Clinic: open access platform for standardized phenotyping. *Nature Methods* 2, 403–4
- Gibbs J, Young RC, Smith GP (1973) Cholecystokinin decreases food intake in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 84, 488–95
- Gibson WT, Farooqi IS, Mareau M, DePaoli AM, Lawrence E, O'Rahilly S, Trussell RA (2004) Congenital leptin deficiency due to homozygosity for the Delta 133G mutation: report of another case and evaluation of response to four years of leptin therapy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 89, 4821–6
- Good DJ (2005) Using obese mouse models in research: special considerations for IACUC members, animal care technicians and researchers. *Lab Animal* 34, 30–7
- Grove KL, Grayson BE, Glavas MM, Xiao XQ, Smith MS (2005) Development of metabolic systems. *Physiology and Behaviour* 86, 646–60
- Hadley ME (2005) Discovery that a melanocortin regulates sexual functions in male and female humans. *Peptides* 26, 1687–9
- Hadley ME, Dorr RT (2006) Melanocortin peptide therapeutics: historical milestones, clinical studies and commercialisation. *Peptides* 27, 921–30
- Hakkak R, Holley AW, MacLeod SL, et al. (2005) Obesity



- promotes 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumor development in female Zucker rats. *Breast Cancer Research* 7, R627–33
- Halaas JL, Boozer C, Blair-West J, Fidulhusein N, Denton DA, Friedman JM (1997) Physiological response to long-term peripheral and central leptin infusion in lean and obese mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94, 8878–83
- Hambly C, Adams A, Fustin JM, Rance KA, Bunger L, Speakman JR (2005) Mice with low metabolic rates are not susceptible to weight gain when fed a high fat diet. *Obesity Research* 13, 556
- Hambly C, Speakman JR (2005) Contribution of different mechanisms to compensation for energy restriction in the mouse. *Obesity Research* 9, 1548–57
- Hamilton BS, Dodds HN (2002) Chronic application of MTHF in a rat model of obesity results in sustained weight loss. *Obesity Research* 10, 182–91
- Hand MD, Armstrong PJ, Allen TA (1989) Obesity: occurrence, treatment and prevention. *Veterinary Clinics of North America* 19, 447–74
- Hansen BC, Ortmeier HK, Bodkin NL (1995) Prevention of obesity in middle-aged monkeys: food intake during body weight clamp. *Obesity Research* 3, 199s–204s
- Hastings IM, Hill WG (1989) A note on the effect of different selection criteria on carcass composition in mice. *Animal Production* 48, 229–33
- Hastings IM, Bootland LH, Hill WG (1993) The role of growth hormone in lines of mice divergently selected on body weight. *Genetical Research* 61, 101–6
- Heldmaier G, Steinlechner S (1981) Seasonal control of energy requirements for thermoregulation in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*), living in natural photoperiod. *Journal of Comparative Physiology* 142, 429–37
- Heymsfield SB, Greenberg AS, Fujioka K, *et al.* (1999) Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults – a randomized, controlled, dose-escalation trial. *JAMA* 282, 1568–75
- Hill JO, Fried SK, DiGirolamo M (1984) Effects of fasting and restricted feeding on utilization of ingested energy in rats. *American Journal of Physiology* 247, R318–27
- Hinney A, Schmidt A, Nottebom K, *et al.* (1999) Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 84, 1483–6
- Holemans K, Aerts L, Van Assche FA (2003) Fetal growth restriction and consequences for the offspring in animal models. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 10, 392–9
- Holmes MC, Kotelevtsev Y, Mullins JJ, Seckl JR (2001) Phenotypic analysis of mice bearing targeted deletions of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases 1 and 2 genes. *Molecular and Cellular Endocrinology* 171, 15–20
- Horvat S, Bunger L, Falconer VM, *et al.* (2000) Mapping of obesity QTLs in a cross between mouse lines divergently selected on fat content. *Mammalian Genome* 11, 2–7
- Hummel KP, Dickie MM, Coleman DL (1966) Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science* 153, 1127–8
- Hunt C, Hambly C (2006) Faecal corticosterone concentrations indicate that separately housed male mice are not more stressed than group housed males. *Physiology and Behaviour* 87, 519–26
- Hunter HL, Nagy TR (2002) Body composition in a seasonal model of obesity: longitudinal measures and validation of DXA. *Obesity Research* 10, 1180–7
- Ingall AM, Dickie MM, Snell GD (1950) Obese, a new mutation in the house mouse. *Journal of Heredity* 41, 317–18
- Inui A (2000) Transgenic approach to the study of body weight regulation. *Pharmacological Reviews* 52, 35–61
- Jhanwar-Uniyal M, Beck B, Jhanwar YS, Bulet C, Leibowitz SF (1993) Neuropeptide Y projection from arcuate nucleus to parvocellular division of paraventricular nucleus: specific relation to the ingestion of carbohydrate. *Brain Research* 631, 97–106
- Jennen DG, Vereijken AL, Bovenhuis H, Crooijmans RM, van der Poel JJ, Groenen MA (2005) Confirmation of quantitative trait loci affecting fatness in chickens. *Genetics, Selection, Evolution* 37, 215–28
- Johnson MS, Thomson SC, Speakman JR (2001) Limits to sustained energy intake. I. Lactation in the laboratory mouse *Mus musculus*. *Journal of Experimental Biology* 204, 1925–35
- Johnston SL, Grune T, Bell LM, *et al.* (2006) Having it all: historical energy intakes do not generate the anticipated trade-offs in fecundity. *Proceedings in Biological Science* 273, 1369–74
- Kask A, Pakkila R, Irs A, Rago L, Wikberg JES, Schiöth HB (1999) Long-term administration of MC4 receptor antagonist HS014 causes hyperphagia and obesity in rats. *Neuroreport* 10, 707–11
- Katsuki A, Sumida Y, Murashima S, *et al.* (1998) Serum levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  are increased in obese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83, 859–62
- Kemnitz JW (1984) Obesity in macaques: spontaneous and induced. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine* 28, 81–114
- Kemnitz JW, Roecker EB, Weindruch R, Elson DF, Baum ST, Bergman RN (1994) Dietary restriction increases insulin sensitivity and lowers blood glucose in Rhesus monkeys. *American Journal of Physiology* 266, E540–7

- Kennedy G (1953) The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proceedings of the Royal Society London B* 140, 78–591
- Klingenspor M, Dickopp A, Heldmaier G, Klaus S (1996) Short photoperiod reduces leptin gene expression in white and brown adipose tissue of Djungarian hamsters. *FEBS Letters* 399, 290–4
- Klingenspor M, Niggemann H, Heldmaier G (2000) Modulation of leptin sensitivity by short photoperiod acclimation in the Djungarian hamster, *Phodopus sungorus*. *Journal of Comparative Physiology B* 170, 37–43
- Kotevlevseva Y, Holmes MC, Burchell A, et al. (1997) 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 knockout mice show attenuated glucocorticoid-inducible responses and resist hyperglycemia on obesity or stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94, 14924–9
- Koutcherov Y, Mai JK, Paxinos G (2003) Hypothalamus of the human fetus. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 26, 253–70
- Kro' I E, Speakman JR (2007) Regulation of body mass and adiposity in the field vole, *Microtus agrestis*: a model of leptin resistance. *Journal of Endocrinology* 192, 271–8
- Kro' I E, Speakman JR (2003) Limits to sustained energy intake. VI. Energetics of lactation in laboratory mice at thermoneutrality. *Journal of Experimental Biology* 206, 4255–66
- Kro' I E, Tups A, Archer ZA, et al. (2007) Altered expression of SOCS3 in the hypothalamic arcuate nucleus during seasonal body mass changes in the field vole, *Microtus agrestis*. *Journal of Neuroendocrinology* 19, 83–94
- Kro' I E, Duncan JS, Redman P, Morgan PJ, Mercer JG, Speakman JR (2006) Photoperiod regulates leptin sensitivity in field voles, *Microtus agrestis*. *Journal of Comparative Physiology B* 176, 153–63
- Kro' I E, Redman P, Thomson PJ, et al. (2005) Effect of photoperiod on body mass, food intake and body composition in the field vole, *Microtus agrestis*. *Journal of Experimental Biology* 208, 571–84
- Kuhn R, Torres RM (2002) Cre/loxP recombination system and gene targeting. *Methods in Molecular Biology* 180, 175–204
- Kulkarni RN, Bruning JC, Winnay JN, Postic C, Magnusson MA, Kahn CR (1999) Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. *Cell* 96, 329–39
- Lacroix M, Gaudichon C, Martin A, et al. (2004) A long term high-protein diet markedly reduces adipose tissue without major side-effects in Wistar male rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 287, R934–42
- Lee GH, Proenca R, Montez JM, et al. (1996) Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 379, 632–5
- Levin BE, Dunn-Meynell AA (2000) Defence of body weight against chronic caloric restriction in obesity-prone and resistant rats. *American Journal of Physiology* 278, R231–7
- Levin BE, Dunn-Meynell AA (2002) Defense of body weight depends on dietary composition and palatability in rats with diet-induced obesity. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 282, R46–54
- Levin BE, Dunn-Meynell AA, Balkan B, Keesey RE (1997) Selective breeding for diet-induced obesity and resistance in Sprague-Dawley rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 273, R725–30
- Levin BE, Keesey RE (1998) Defense of differing body weight set points in diet-induced obese and resistant rats. *American Journal of Physiology* 274, R412–19
- Lewis DS, Bertrand HA, McMahan CA, McGill HC Jr, Carey KD, Masoro EJ (1989) Influence of preweaning food intake on body composition of young adult baboons. *American Journal of Physiology* 257, R1128–35
- Lin S, Boey D, Herzog H (2004) NPY and Y receptors: lessons from transgenic and knockout models. *Neuropeptides* 38, 189–200
- Lindblad-Toh K, Wade CM, Mikkelsen TS, et al. (2005) Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* 438, 803–19
- Martin LJM, Siliart B, Dumon HJW, Nguyen PG (2006) Hormonal disturbances associated with obesity in dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90, 355–60
- Masuzaki H, Flier JS (2003) Tissue-specific glucocorticoid reactivating enzyme, 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 beta-HSD1) – a promising drug target for the treatment of metabolic syndrome. *Current Drug Targets. Immune, Endocrine and Metabolic Disorders* 3, 255–62
- Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, et al. (2001) A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science* 294, 2166–70
- McElroy JF, Mason PW, Hamilton JM, Wade GN (1986) Effects of diet and photoperiod on NE turnover and GDP binding in Siberian hamster brown adipose tissue. *American Journal of Physiology* 250, R383–8
- Mercer JG, Speakman JR (2001) Hypothalamic neuropeptide mechanisms for regulating energy balance: from rodent models to human obesity. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25, 101–16
- Mercer JG, Moar KM, Logie TJ, Findlay PA, Adam CL,

- Morgan PJ (2001) Seasonally-inappropriate body weight induced by food restriction: effect on hypothalamic gene expression in male Siberian hamsters. *Endocrinology* 142, 4173–81
- Mercer JG, Moar KM, Ross AW, Hoggard N, Morgan PJ (2000) Photoperiod regulates arcuate nucleus POMC, AGRP, and leptin receptor mRNA in Siberian hamster hypothalamus. *American Journal of Physiology* 278, R271–81
- Meyer CW, Korthaus D, Jagla W, et al. (2004) A novel missense mutation in the mouse growth hormone gene causes semidominant dwarfism, hyperghrelinemia, and obesity. *Endocrinology* 145, 2531–41
- Michael MD, Kulkarni RN, Postic C, et al. (2000) Loss of insulin signaling in hepatocytes leads to severe insulin resistance and progressive hepatic dysfunction. *Molecular Cell* 6, 87–97
- Montague CT, O'Rahilly S (2000) The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes* 49, 883–8
- Morgan PJ, Ross AW, Mercer JG, Barrett P (2003a) Photoperiodic programming of body weight through the neuroendocrine hypothalamus. *Journal of Endocrinology* 177, 27–34
- Morgan C, Urbanski HF, Fan W, Akil H, Cone RD (2003b) Pheromone-induced anorexia in male Syrian hamsters. *American Journal of Physiology* 285, E1028–38
- Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW (2006) Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 443, 289–95
- Mrosovsky N (1983) Cyclical obesity in hibernators: the search for the adjustable regulator. In: *Recent Advances in Obesity Research: IV* (Hirsch J, Van Itallie TB, eds). London: John Libbey & Co Ltd, 45–56
- Murphy B, Nunes CN, Ronan JJ, Hanaway M, Fairhurst AM, Mellin TN (2000) Centrally administered MTII affects feeding, drinking, temperature, and activity in the Sprague-Dawley rat. *Journal of Applied Physiology* 89, 273–82
- Nagasawa H, Yanai R (1971) Quantitative participation of placental mammatropic hormones in mammary development during pregnancy of mice. *Endocrinologia Japonica* 18, 507–10
- Nagy TR (1993) Effects of photoperiod history and temperature on male collared lemmings, *Dicrostonyx groenlandicus*. *Journal of Mammalogy* 74, 990–8
- Nagy TR, Negus NC (1993) Energy acquisition and allocation in male collared lemmings (*Dicrostonyx groenlandicus*): effects of photoperiod, temperature and diet quality. *Physiological Zoology* 66, 537–60
- Nagy TR, Gower BA, Stetson MH (1994) Photoperiod effects on body mass, body composition, growth hormone, and thyroid hormones in male collared lemmings (*Dicrostonyx groenlandicus*). *Canadian Journal of Zoology* 72, 1726–34
- Nielsen MK, Freking BA, Jones LD, Nelson SM, Vorderstrasse TL, Hussey BL (1997a) Divergent selection for heat loss in mice: II. Correlated responses in feed intake, body mass, body composition and number born through fifteen generations. *Journal of Animal Science* 75, 1469–76
- Nielsen MK, Jones LD, Freking BA, Deshazer JA (1997b) Divergent selection for heat loss in mice. I. Selection applied and direct response through fifteen generations. *Journal of Animal Science* 75, 1461–8
- Odorizzi M, Fernet B, Angel E, Burlet C, Tankosic P, Burlet A (2002) Galanin receptor antagonists decrease fat preference in Brattleboro rat. *Neuropharmacology* 42, 134–41
- Page SL, Goodman M (2001) Catarrhine phylogeny: non-coding DNA evidence for a diphyletic origin of the Mangabeys and for a human-chimpanzee clade. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18, 14–25
- Painter RC, Roseboom TJ, Bossuyt PM, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP (2005) Adult mortality at age 57 after prenatal exposure to the Dutch famine. *European Journal of Epidemiology* 20, 673–6
- Palmiter RD, Erickson JC, Hollopeter G, Baraban SC, Schwartz MW (1998) Life without neuropeptide Y. *Recent Progress in Hormone Research* 53, 163–99
- Peacock W, Speakman JR (2001) Effect of high-fat diet on body mass and energy balance in the bank vole. *Physiology and Behavior* 74, 65–70
- Peacock WL, Kro' I E, Moar KM, McLaren JS, Mercer JG, Speakman JR (2004) Photoperiodic effects on body mass, energy balance and hypothalamic gene expression in the bank vole. *Journal of Experimental Biology* 207, 165–77
- Pelleymounter MA, Culem MJ, Baker MB, et al. (1995) Effects of the obese gene-product on bodyweight regulation in ob/ob mice. *Science* 269, 540–3
- Petterborg LJ (1978) Effect of photoperiod on body weight in the vole, *Microtus montanus*. *Canadian Journal of Zoology* 56, 431–5
- Plagemann A, Harder T, Kohlhoff R, Rohde W, Dörmel G (1997) Glucose tolerance and insulin secretion in children of mothers with pregestational IDDM or gestational diabetes. *Diabetologia* 40, 1094–100
- Pomp D (1997) Genetic dissection of obesity in polygenic animal models. *Behavior Genetics* 27, 285–306
- Pond WG, Mersmann HJ, Yen JT (1985) Effect of obesity per se on plasma lipid and aortic responses to diet in swine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 179, 90–5
- Poppitt SD, Swann D, Black AE, Prentice AM (1998) Assessment of selective under-reporting of food intake by

- both obese and non-obese women in a metabolic facility. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 4, 303–11
- Powell DR (2006) Obesity drugs and their targets: correlation of mouse knockout phenotypes with drug effects in vivo. *Obesity Reviews* 7, 89–108
- Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, et al. (2006) The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity* 14, 529–644
- Rask E, Olsson T, Soderberg S, et al. (2001) Tissue-specific dysregulation of cortisol metabolism in human obesity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86, 1418–21
- Ravelli ACJ, van der Meulen JHP, Michels RPI, Osmond C, Barker DJP, Hales CN (1998) Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 351, 173–7
- Ravinet Trillou C, Amone M, Delgorge C, et al. (2003) Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 284, R345–53
- Ravinet Trillou C, Delgorge C, Menet C, Amone M, Soubrie P (2004) CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 28, 640–8
- Reynolds PS, Lavigne DM (1989) Photoperiodic effects on post-weaning growth and food consumption in the collared lemming *Dicrostonyx groenlandicus*. *Journal of Zoology (London)* 218, 109–21
- Ricci MR, Levin BE (2003) Ontogeny of diet-induced obesity in selectively bred Sprague-Dawley rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 285, R610–18
- Rocchini AP, Moorehead CP, DeRemer S, Bondie D (1989) Pathogenesis of weight-related changes in blood pressure in dogs. *Hypertension* 13, 922–8
- Romsos DR, Hornshuh MJ, Leveille GA (1978) Influence of dietary fat and carbohydrate on food intake, body weight and body fat of adult dogs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 157, 278–81
- Romsos DR, Belo PS, Bennink MR, Bergen WG, Leveille GA (1976) Effects of dietary carbohydrate, fat and protein on growth, body composition and blood metabolite levels in the dog. *Journal of Nutrition* 106, 1452–64
- Roseboom TJ, van der Meulen JH, Ravelli AC, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP (2001) Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. *Molecular and Cellular Endocrinology* 185, 93–8
- Rothwell NJ, Stock MJ, Trayhum P (1983) Reduced lipogenesis in cafeteria-fed rats exhibiting diet-induced thermogenesis. *Bioscience Reports* 3, 217–24
- Rothwell NJ, Stock MJ (1982) Energy expenditure of 'cafeteria'-fed rats determined from measurements of energy balance and indirect calorimetry. *Journal of Physiology* 328, 371–7
- Russell LB, Russell WL (1992) Frequency and nature of specific-locus mutations induced in female mice by radiations and chemicals: a review. *Mutation Research* 296, 107–27
- Salton SR, Hahm S, Mizuno TM (2000) Of mice and MEN: what transgenic models tell us about hypothalamic control of energy balance. *Neuron* 25, 265–8
- Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG (2000) Central nervous system control of food intake. *Nature* 404, 661–71
- Sharp G, Hill WG, Robertson A (1984) Effects of selection on growth, body composition and food intake in mice. *Genetical Research* 43, 75–92
- Smith BK, Andrews PK, West DB (2000) Macronutrient diet selection in thirteen mouse strains. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 278, R797–805
- Smith BK, Berthoud HR, York DA, Bray GA (1997) Differential effects of baseline macronutrient preferences on macronutrient selection after galanin, NPY, and an overnight fast. *Peptides* 18, 207–11
- Smith BK, Kelly LA, Pina R, York DA, Bray GA (1998) Preferential fat intake increases adiposity but not body weight in Sprague-Dawley rats. *Appetite* 31, 127–39
- Smith BK, York DA, Bray GA (1994) Chronic cerebroventricular galanin does not induce sustained hyperphagia or obesity. *Peptides* 15, 1267–72
- Snyder EE, Walts B, Perusse L, et al. (2004) The human obesity gene map: the 2003 update. *Obesity Research* 12, 369–439
- Stebbins LL (1984) Overwintering activity of *Peromyscus maniculatus*, *Clethrionomys gapperi*, *C. rutilus*, *Eutamias amoenus* and *Microtus pennsylvanicus*. In: *Winter Ecology of Small Mammals. Special Publication of Carnegie Museum of Natural History (Merritt J, ed). Vol. 10. Pittsburgh: Office of Scientific Publications, 201–13*
- Steinlechner S, Heldmaier G (1982) Role of photoperiod and melatonin in seasonal acclimatization of the Djungarian hamster, *Phodopus sungorus*. *International Journal of Biometeorology* 26, 329–37
- Stock MJ, Rothwell NJ (1982) Evidence for diet induced thermogenesis in hyperphagic cafeteria-fed rats. *Proceedings of the Nutrition Society* 41, 133–5
- Surwit RS, Kuhn CM, Cochrane C, McCubbin JA, Feinglos MN (1988) Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes* 37, 1163–7
- Swallow JG, Koteja P, Carter PA, Garland T Jr (2001) Food

- consumption and body composition in mice selected for high wheel-running activity. *Journal of Comparative Physiology B* 171, 651–9
- Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, *et al.* (1995) Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83, 1263–71
- Tolkamp BJ, Yearsley JM, Gordon IJ, Illius AW, Speakman JR, Kyriazakis I (2007) Predicting the effects of body fatness on food intake and performance of sheep. *British Journal of Nutrition* 97, 1206–15
- Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rossner S: RIO–Europe Study Group (2005) Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO–Europe study. *Lancet* 365, 1389–97
- Vickers SP, Webster LJ, Wyatt A, Dourish CT, Kennett GA (2003) Preferential effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist, SR 141716, on food intake and body weight gain of obese (fa/fa) compared to lean Zucker rats. *Psychopharmacology (Berl)* 167, 103–11
- Wade GN (1982) Obesity without overeating in golden hamsters. *Physiology and Behavior* 29, 701–7
- Wagner JE, Kavanagh K, Ward GM, Auerbach BJ, Harwood HJ Jr, Kaplan JR (2006) Old World nonhuman primate models of type 2 diabetes mellitus. *ILAR Journal* 2006 47, 259–71
- Wang D, Wang Z (1996) Seasonal variations in thermogenesis and energy requirements of plateau pikas *Ochotona curzoniae* and root voles *Microtus oeconomus*. *Acta Theriologica* 41, 225–36
- Watanabe TK, Okuno S, Oga K, *et al.* (1999) Genetic dissection of 'OLETF,' a rat model for non-insulin-dependent diabetes mellitus: quantitative trait locus analysis of (OLETF \_ BN) \_ OLETF. *Genomics* 58, 233–9
- Wells SE, Flavell DM, Bisset GW, *et al.* (2003) Transgenesis and neuroendocrine physiology: a transgenic rat model expressing growth hormone in vasopressin neurons. *Journal of Physiology* 551, 323–36
- West DB, York B (1998) Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. *American Journal of Clinical Nutrition* 67, 505S–12S
- White JM, Legates JE, Eisen EJ (1968) Maternal effects among lines of mice selected for body weight. *Genetics* 60, 395–408
- Wirth MM, Olszewski PK, Yu C, Levine AS, Giraud SQ (2001) Paraventricular hypothalamic alpha-melanocyte-stimulating hormone and MTH reduce feeding without causing aversive effects. *Peptides* 22, 129–34
- Wynne K, Stanley S, McGowan B, Bloom S (2005) Appetite control. *Journal of Endocrinology* 184, 291–318
- Yamakawa T, Tanaka S, Yamakawa Y, *et al.* (1995) Augmented production of tumor necrosis factor alpha in obese mice. *Clinical Immunology and Immunopathology* 75, 51–6
- York B, Lei K, West DB (1996) Sensitivity to dietary obesity linked to a locus on chromosome 15 in a CAST/Ei \_ C57BL/6J F2 intercross. *Mammalian Genome* 7, 677–81
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372, 425–32
- Zucker LM, Zucker TF (1961) Fatty, a new mutation in the rat. *Journal of Heredity* 52, 275–8