

## ARTICULO ORIGINAL

### Niveles séricos de leptina e insulina en sujetos obesos y no obesos (1)

*Serum levels of leptin and insulin in obese and non obese subjects*

Dra. Maria Cristina Jiménez (\*)

1) Tesis presentada en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Asunción Año 2005.

(\*) Jefe de Sala. Cátedra de Semiología Médica. Hospital de Clínicas FCM. UNA.

---

#### RESUMEN

La leptina y la insulina están asociadas a la obesidad, y teniendo en cuenta la prevalencia elevada de obesidad en Paraguay, que fue de 32% en el año 1994, se realizó éste estudio temporalmente de corte transversal con el objeto de determinar la relación entre los niveles de insulina y leptina en población paraguaya. Se incluyeron 58 individuos, 31 mujeres y 27 hombres. Los cuales eran del personal de salud y administrativo del Hospital de Clínicas de la Facultad de Ciencias Médicas de Asunción, Paraguay, desde julio a noviembre del año 2000. Estos individuos fueron distribuidos en dos grupos: no obesos y obesos, de acuerdo al índice de masa corporal (IMC).

Los resultados del estudio mostraron relación entre obesidad abdominal y leptina resistencia e hiperinsulinemia, componentes del síndrome metabólico. Los niveles séricos de leptina e insulina fueron significativamente más altos en la población de obesos que en las de no obesos. Los valores promedios de leptina en el grupo de los no obesos fue de  $12,6 \pm 7,15$  ng/mL, mientras que en los obesos fue de  $35,8 \pm 22,6$  ng/mL. En relación a la insulina los valores fueron  $10,2 \pm 2,7$  mUI/l y  $23,2 \pm 11,3$  mUI/l, en no obesos y obesos, respectivamente.

Los resultados constituyen el primer dosaje de leptina en una muestra de la población paraguaya de adultos, servirán de referencia en adultos sanos no obesos, y al mismo tiempo permitirá ampliar los conocimientos del rol de estas dos hormonas involucradas en la respuesta metabólica ponderal.

**Palabras claves:** leptina, insulina, insulinoresistencia, obesidad.

#### ABSTRACT

Considering that leptin and insulin are associated to obesity and the high prevalence of obesity in Paraguay, that was 32% in 1994, this transversal study was performed in order to determine the relationship between insulin and leptin levels in a Paraguayan population. A total of 58 subjects, 31 women and 27 men were included. They were members of the health and administrative staff of the Hospital de Clinicas of the Faculty of Medicine of Asuncion, Paraguay. Samples were collected from July to November 2000 and the subjects were distributed in obese and non-obese groups according to the body mass index (BMI).

The results showed a relationship between abdominal obesity and leptin-resistance and hyperinsulinemia, components of the metabolic syndrome. The serum levels of leptin and insulin were significantly much higher in the obese population than in the nonobese one. The average value of leptin in the non-obese group was  $12.6 \pm 7.15$  ng/mL while in the obese group was  $35.8 \pm 22.6$  ng/mL. In relation to insulin, the values were  $10.2 \pm 2.7$  mUI/l and  $23.2 \pm 11.3$  mUI/l in the non-obese and obese groups respectively.

These results are the first measurement of leptin in a sample of the Paraguayan adult population and will serve as reference in healthy non-obese adults and, at the same time, will allow to increase the knowledge about the role of these two hormones involved in the weighable metabolic response.

**Keywords:** Leptin, insulin, insulin-resistance, leptin-resistance, obesity.

#### INTRODUCCION

El significado social y médico de la grasa corporal fue cambiando de acuerdo a las transformaciones de las condiciones de vida y expectativas de cada cultura. Prestigiada y deseada en los orígenes de la historia, actualmente se la considera antiestética y peligrosa. Antes se creía que el tejido adiposo era una reserva inerte de grasa, que almacena las calorías ingeridas en exceso bajo la forma de triglicéridos intraadipocitarios, lo que permite a los seres vivos asegurar la continuidad de la especie y supervivencia en tiempos de escasez alimentaria, permitiendo suplir la energía necesaria durante un mes en los delgados y hasta un año en los obesos (1). Hoy sabemos, su emergente papel como órgano endocrino, con funciones metabólicas y hormonales vinculadas a las complicaciones de la obesidad, siendo la disminución a la sensibilidad a la insulina uno de los más notables.(1)

La obesidad se define como un exceso de almacenamiento de energía en forma de grasa, es decir, se caracteriza por un aumento del tejido adiposo, que no guarda proporción con el depósito proteico ni de hidratos de carbono. Esta situación aparece como resultado del balance entre el consumo calórico y el gasto energético del individuo por tiempo prolongado. Las causas que condicionan un balance de energía positivo, es decir, un exceso de energía consumida frente al gasto realizado, parecen deberse a factores ambientales y factores neuroendocrinos con una cierta predisposición genética en algunos casos.(2, 3)

Por eso el descubrimiento de la leptina (4), hormona secretada por el tejido adiposo, fue el detonante para el inicio de una serie de descubrimientos que han permitido grandes avances en la fisiología de la regulación del peso corporal, revolucionando y revitalizando arcaicos conceptos del balance energético y del control de la adiposidad. (4)

Inicialmente se consideró a la leptina como una señal antiobesidad, opinión que paulatinamente se ha ido modificando hacia una hormona adipocitaria con múltiples acciones sistémicas que abarcan mucho más que el control del peso corporal, en donde su participación en la regulación del balance energético a nivel del hipotálamo sería una más de ellas, actuando más como un mensajero graso que como controlador de grasa corporal estrictamente. En tal sentido, considerando que la hambruna y la desnutrición han sido una amenaza constante para la especie humana, la leptina desempeñaría un papel principal en protegernos contra estados nutricionales deficientes que comprometan la vida, más que defendernos contra la sobrealimentación y ganancia de peso (5)

La posibilidad de que la obesidad sea un estado de leptinorresistencia fue propuesta a partir de los hallazgos que la mayor parte de las obesidades humanas y animales presentan concentraciones plasmáticas aumentadas, en concordancia con la cantidad de tejido adiposo pero a pesar de ello, la leptina era incapaz de revertir la obesidad (6,7). Si bien recientemente se han descrito deficiencias congénitas de leptina (8), el modelo humano más frecuente es de leptinorresistencia.(9). La leptina controla el peso corporal en condiciones normales, regulando el apetito y la termogénesis. Un efecto muy importante de la nueva hormona en su actividad a nivel del hipotálamo al disminuir la expresión del neuropéptido Y, considerado como el principal estimulante del apetito.(10)

Estudios in vitro demuestran que la insulina afecta la producción de leptina y los incrementos en los niveles de insulina por lo general van acompañados de incremento en los niveles circulantes de leptina (11,12). Sin embargo los niveles de leptina, estudiados en poblaciones indígenas tales como la población Mapuche rural en Chile (13), presentan niveles bajos de insulina y leptina, siendo obesos. También en indios Pima, se reportan bajas concentraciones de leptina siendo obesos (14), sugiriendo que una secreción crónica disminuida podría conducir a obesidad.

La leptina constituye una de las principales hormonas sintetizadas por el adiposito, que no solo participa en la regulación del peso corporal sino que tiene otras importantes y diversas acciones que recién empiezan a ser comprendidas. Su descubrimiento a fines de 1994 permitió un gran avance en el conocimiento de los mecanismos íntimos centrales que gobiernan la alimentación y el gasto energético iniciándose una nueva era en la obesidad, apoyada en gran parte por la ingeniería genética con modelos de obesidad genética animal, abrigando esperanzas para la generación de nuevos fármacos, que permitan combatir más eficientemente esta epidemia, considerando que la insulina, hormona secretada por las células  $\beta$  de los islotes del páncreas, mediante la hiperinsulinemia, tiene un papel importante en los trastornos metabólicos asociados a la obesidad.

Considerando que tanto la leptina como la insulina están asociadas a la obesidad, que la hiperinsulinemia tiene un rol importante en los trastornos metabólicos que acompañan a la obesidad, y teniendo en cuenta la prevalencia elevada de obesidad en Paraguay, que fue de 32% en el año 1994 (15), se propone éste estudio que tiene por objeto determinar la relación que existe entre los niveles de insulina y leptina en población paraguaya. Los resultados de este estudio servirán de referencia en adultos sanos no obesos, y al mismo tiempo permitirá una comparación de los mismos elementos con sujetos paraguayos obesos sin ninguna otra enfermedad para poder ampliar los conocimientos del rol de estas dos hormonas involucradas en la respuesta metabólica ponderal. Constituyendo este el primer dosaje de leptina en una muestra de la población paraguaya de adultos, podría servir de base para futuros estudios y contribuir a disminuir la epidemia de obesidad y otros trastornos asociados a ella.

## **OBJETIVO**

Determinar los niveles basales de insulina y leptina séricas en ayuno en adultos, sanos, no obesos, y compararlos con los obtenidos en adultos, obesos, sin otra enfermedad.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

### **Selección de la población**

Estudio observacional analítico, con muestreo , temporalmente de corte transversal incluyó a 58 individuos, 31 eran mujeres y 27 hombres. Los cuales eran del personal de salud y administrativo del Hospital de Clínicas de la Facultad de Ciencias Médicas de Asunción, Paraguay, desde julio a noviembre del año 2000. Estos individuos fueron distribuidos en dos grupos: no obesos y obesos.

En el grupo de no obesos se estudiaron 28 individuos, con una media de edad de  $30.2 \pm 7,6$  años. Su promedio de índice de masa corporal (IMC):  $22,7 \pm 7,7$  kg/m<sup>2</sup>, la media de la cintura:  $72,6 \pm 7,4$  cm, siendo el criterio de inclusión índice de masa corporal (IMC) de 19,9 hasta 24,9 kg/m<sup>2</sup>. En el grupo de sujetos obesos se incluyeron 30 individuos, con una media de edad en años  $34,4 \pm 8,9$ , cuyo promedio de IMC fue :  $35,8 \pm 5,2$  kg/m<sup>2</sup>, la media de la cintura:  $104,9 \pm 13,5$  cm, siendo el criterio de inclusión IMC de 30 hasta 50 kg/m<sup>2</sup>. Los criterios de exclusión fueron sujetos con sobrepeso (IMC de 25 a 29,9 kg/m<sup>2</sup>). Presencia de enfermedades graves: neoplasia, diabetes descontrolada, hipertensión arterial severa, enfermedades sistémicas mayores. Uso de fármacos como: corticoides, hormona de crecimiento, drogas anorexígenas o cambios de peso en los últimos 3 meses de más del 10 % de su peso habitual.

Muestreo y reclutamiento: No probabilístico, consecutivo. Para la inclusión de los individuos al estudio, se realizaron charlas informativas sobre obesidad y el rol de la leptina a personal de salud y administrativo del Hospital de Clínicas, a los cuales se invitó a participar en forma voluntaria del protocolo de estudio.

### **Mediciones**

Variable resultante o dependiente: concentraciones séricas de leptina e insulina en ng/mL y mUI/L, respectivamente. Variable predictora o independiente: Índice de masa corporal en kg/m<sup>2</sup>. Otras variables: circunferencia de cintura en centímetros, edad, sexo.

### **Instrumento**

La leptina y la insulina fueron cuantificadas de una muestra matinal de sangre, luego de 12 horas de ayuno, usando la técnica convencional de radio inmunoensayo del reactivo comercializado por Medipan Diagnóstica, Selchow (Germany), para la leptina. Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron 4,6 % y 6,7 %, respectivamente. La insulina fue cuantificada por el método ICMA (Inmunoquimioluminiscencia). Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron 5,4% y 7,6%, respectivamente, de un reactivo comercializado por DPC, USA.

Para establecer las dos poblaciones que debían ser confrontadas se realizaron las mediciones antropométricas, determinándose: peso, talla y circunferencia de cintura y cadera, con los individuos descalzos y con ropa ligera.

El índice de masa corporal (IMC) se tomó de la relación entre el peso en kg. sobre el cuadrado de la altura en metros, para clasificar a los individuos en no obesos y obesos, de acuerdo a los puntos de corte establecidos por la OMS (16), en los cuales se define como: no obeso, el que tiene el IMC entre 19,9 y 24,9 kg/m<sup>2</sup> y obeso, el que tiene el índice de masa corporal por encima de 30 kg/m<sup>2</sup>.

El margen de error aceptado en las mediciones es del 3% calculado en base del error intraobservador, en razón de existir medición antropométrica por un solo investigador.

La circunferencia de la cintura fue medida ubicando el centímetro entre el borde superior de la cresta iliaca derecha y el borde inferior de la parrilla costal, a nivel de la línea media axilar derecha, efectuando la medición en un plano paralelo al suelo (17).

### **Análisis estadísticos:**

**Tamaño de la muestra:** Se calculó por la fórmula para variables continuas y comparación de medias empleando prueba t (18) para estimar una diferencia de 3,8 ng/ mL en los niveles de leptina, entre los no obesos y los obesos. El tamaño de muestra fue de 25 individuos como mínimo en cada grupo, para un alfa de 0,05 y beta de 0,20. Se emplearon como valores séricos de leptina, de referencia los reportados por Pisabarro (19), que fueron de  $17,1 \pm 10,5$  ng/mL para la mujer, y  $8,9 \pm 4,8$  ng/mL para el varón en individuos no obesos. Los valores séricos de referencia establecidos de leptina para los obesos, en ayuno, reportados por el mismo investigador, fueron de  $33,5 \pm 16,8$  ng/mL para las mujeres obesas, y, de  $15 \pm 14$  ng/mL para el varón obeso.

**Asuntos Estadísticos:** El análisis de datos incluyó el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson (rp) y de Spearman (rs) (para correlaciones en muestras y menores de 30) para estudiar la asociación entre variables continuas. Para la comparación de medias entre los grupos, a un solo factor (solamente sexo o estado) se uso la prueba t de Student y para dos factores (sexo y estado) se utilizó la prueba de la suma de rangos de Wilcoxon, unilateral y con un nivel de confianza de 0,05.(18)

**Análisis de Regresión:** Se plantea un modelo donde la variable respuesta es el logaritmo neperiano de la leptina y sin intercepto (se excluyen los resultados para un modelo con intercepto dado que ajusta pero tiene valores influyentes). Dicho modelo ajustó muy bien a los datos y no estuvo influido por valores extremos.

### Asuntos éticos:

**Respeto:** el estudio no causó ningún daño, porque sólo se realizaron mediciones de sangre, sin ningún inconveniente, previo consentimiento de los sometidos voluntariamente al estudio.

**Beneficencia:** los sujetos estudiados fueron informados de los resultados obtenidos. los obesos fueron sometidos a un plan de reducción de peso, basados en el cambio del estilo de vida: alimentación hipocalórica, actividad física, tratamiento farmacológico.

**Justicia:** el dosaje de estas hormonas nos permite conocer el nivel de leptina e insulina en la población paraguaya. No hubo diferencias en las molestias causadas en los participantes de ambos grupos o sexos.

## RESULTADOS

Los valores promedios de leptina en el grupo de los no obesos fue de  $12,6 \pm 7,15$  ng/mL, mientras que en los obesos fue de  $35,8 \pm 22,6$  ng/mL. En relación a la insulina los valores fueron  $10,2 \pm 2,7$  mUI/l y  $23,2 \pm 11,3$  mUI/l, en no obesos y obesos, respectivamente. Las características demográficas, antropométricas y metabólicas en obesos y no obesos se presentan en la Tabla 1.

**Tabla 1. Características demográficas, antropométricas y metabólicas en obesos y no obesos. N = 58**

VARIABLE	MUJERES (n=31)			Valor p
	NO OBESAS (n=15)	OBESAS (n=16)		
	MEDIA (DE)	MEDIA (DE)		
EDAD (años)	32,3 (8,51)	36,4 (10,74)		0,1175
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22,2 (1,81)	36,5 (5,95)		<0,01*
CINTURA (cm)	67,9 (3,94)	99,3 (12,72)		<0,01*
INSULINA (mUI/l)	9,8 (2,69)	24,8 (12,88)		<0,01*
LEPTINA (ng/mL)	16,5 (7,26)	49,7 (22,95)		<0,01*

VARIABLE	VARONES (n=27)			Valor p
	NO OBESOS (n=13)	OBESOS (n=14)		
	MEDIA (DE)	MEDIA (DE)		
EDAD (años)	28 (6,18)	32,2 (5,9)		0,02*
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	23,5 (1,31)	35,0 (4,12)		<0,01*
CINTURA (cm)	77,9 (6,87)	111,4 (11,57)		<0,01*
INSULINA (mUI/l)	10,6 (2,7)	21,3 (9,28)		<0,01*
LEPTINA (ng/mL)	8 (3,4)	20 (5,39)		<0,01*

VARIABLE	TOTAL (n=58)					
	a) NO OBESOS (n=28)			b) OBESOS (n=30)		
	MEDIA (DE)	MIN	MAX	MEDIA (DE)	MIN	MAX
EDAD (años) *	30,3 (7,69)	21	54	34,5 (8,94)	19	55
IMC (kg/m <sup>2</sup> )**	22,7 (1,69)	19,5	24,9	35,8 (5,15)	30	52
CINTURA (cm)**	72,6 (7,4)	60	90	104,9 (13,47)	84	133
INSULINA (mUI/l)	10,2 (2,67)	4,5	14,2	23,2 (11,29)	9,1	58,8
LEPTINA (ng/mL)**	12,6 (7,15)	2	35	35,8 (22,64)	12	105

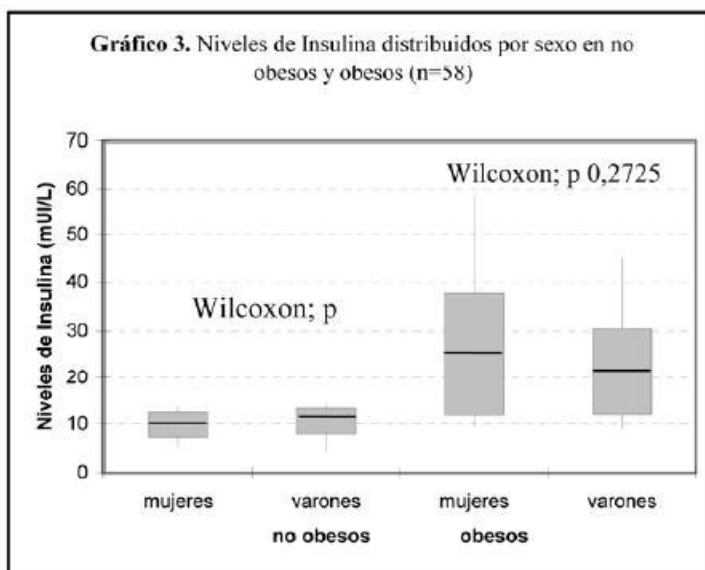
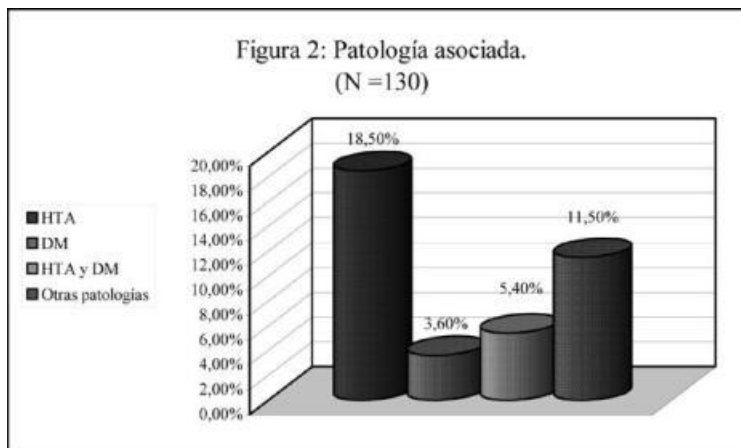
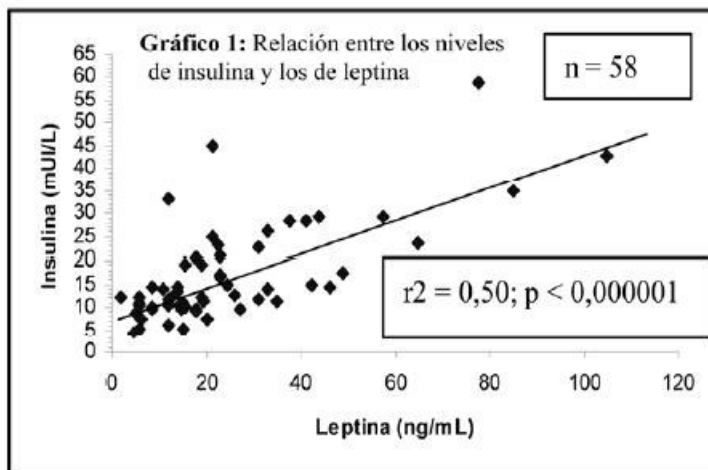
Valores expresados en media aritmética y DE=Desvío Estándar; \* p >0,05 ;

\*\* p < 0,05; prueba de rangos de Wilcoxon; a) IMC < 25; b) IMC > 30

El nivel de insulina está relacionado con el nivel de leptina cuando se ignora el sexo y el IMC, ( $r^2 = 0,50$ ;  $p < 0,000001$ ), Gráfico 1. Sin embargo cuando se discrimina según el estado (no obesos y obesos) ambas variables están relacionadas solamente en los obesos.

En el Gráfico 2 se muestra la comparación de los niveles de leptina en no obesos y obesos, donde hay una diferencia significativa, cuanto mayor es el IMC, mayores son los niveles de leptina ( $p < 0,01$ ). Al comparar los niveles entre mujeres y varones en cada estado, se observa que el valor de leptina es significativamente

mayor en mujeres ( $p < 0,01$ ), en no obesos y en los obesos. El valor de insulina también es significativamente mayor en los obesos ( $p < 0,01$ ), sin embargo no se observa diferencias dentro de un mismo sexo ( $p > 0,05$ ). Gráfico 3.



El nivel de leptina, cuando se ignoran los factores sexo y estado (no obeso y obeso), se ve influenciado en forma significativa por la edad y el IMC, a través del siguiente modelo:  $\ln(\text{LEPTINA}) = 0,02316 \text{ EDAD} + 0,07261 \text{ IMC}$ . Por cada unidad de cambio en el ln del nivel de leptina, la edad aumenta en 0,02316 unidades,

manteniendo constante el valor de IMC, y el IMC aumenta en 0,07261 unidades manteniendo constante el valor de edad.

## DISCUSIÓN

Las concentraciones séricas de leptina se incrementan con la obesidad, siendo más elevados en mujeres que en varones para cualquier grado de obesidad (7, 19). Considine en el año 1996, fue el primero en demostrar que el nivel de leptina se correlaciona significativa y positivamente con el grado de obesidad. Posteriormente otros autores ampliaron esta información estudiando el comportamiento en diferentes poblaciones (19, 21). Los resultados de este estudio realizado en población paraguaya, confirman la relación entre la leptina, y el IMC, así como con la circunferencia de cintura.

La cantidad de tejido adiposo se determina por el IMC, que si bien es una medida indirecta de adiposidad se correlaciona con la grasa corporal y constituye un importante indicador para el diagnóstico de obesidad.(16). En el presente trabajo, los niveles séricos de leptina e insulina en ayunas se asociaron significativamente con el IMC, siendo mayor en obesos que en no obesos ( $p < 0,0001$ ), resultados que concuerdan con estudios reportados previamente (7, 19,20, 22,23).

Este estudio mostró que el sexo, es un factor determinante para el nivel de leptina, pues los niveles en las mujeres fueron siempre superiores en relación a los hombres, ya sean éstas no obesas u obesas, coincidiendo con lo observado por otros autores(19,21,23 ) Los niveles de leptina fueron más elevados en las mujeres que en los varones; la leptina en mujeres obesas se elevó casi al triple del valor observado en las mujeres no obesas, en cambio en los hombres obesos, el nivel se encontró elevado sólo al doble del intervalo considerado en los no obesos. Este hecho es debido probablemente al efecto estimulante estrogénico y a la mayor grasa subcutánea, de las mujeres.(7)

En el presente estudio, se encontró que la edad y el IMC son factores predictivos independientes de aumento en los niveles de leptina, cuando se ignoran los factores sexo y estado (obeso y no obesos), como se evidencia en la mayoría de los trabajos efectuados en grupos de 60 años o menos (7, 21) Sin embargo hay estudios que informan correlación negativa entre la leptina y la edad en grupos de mayor edad, donde la concentración decrece con la edad tanto en varones como en mujeres, independiente de la disminución del tejido adiposo subcutáneo ( 20,24, 25).

La expresión del gen OB y la producción de leptina están regulados por la insulina, existiendo una fuerte correlación positiva entre concentración sérica de leptina e insulina plasmática (20,26,27,,28,29,30), hecho que también observamos en este estudio, en donde obtuvimos correlación positiva entre leptina e insulina ( $r_p=0,704$ ,  $p < 0,01$ ), lo cual se mantuvo en obesos al ajustar por IMC, encontrándose sobretodo hiperinsulinemia en las mujeres obesas.

La contribución de los diferentes depósitos de grasa a la producción de leptina e insulina no es similar. La expresión y secreción de leptina es mayor en la grasa subcutánea que en la visceral (11, 27, 31). La circunferencia de cintura es utilizada como medida antropométrica de la obesidad abdominal. Al respecto, los resultados de los estudios son contradictorios en la utilidad dada a esta medida, lo cual depende de la precisión y exactitud de los métodos utilizados para su medición, siendo más precisos cuando se emplean métodos confirmatorios, tales como resonancia magnética nuclear (RMN) y tomografía axial computarizada (TAC) (24). Los resultados del presente estudio mostraron una correlación positiva entre la leptina, la insulina y la grasa abdominal, medida por circunferencia de cintura, hallazgos coincidente con lo descrito en la literatura (31,32). .

Los resultados del estudio mostraron relación entre obesidad abdominal y aumento de los niveles de leptina. Lo cual evidencia la presencia de leptinorresistencia en ellos. Este hecho demuestra que hasta la fecha, el uso de leptina como tratamiento de la obesidad, no tiene los beneficios esperados, excepto en pacientes con deficiencias absolutas de leptina o en obesos con leptinemias bajas. Por lo tanto el cambio del estilo de vida (actividad física y plan de alimentación adecuado), continúan siendo los pilares fundamentales del tratamiento de la obesidad, ya que está demostrado, que con una pérdida del 10 % , disminuye la leptinemia en un 50 % (7). Sin embargo, los nuevos estudios con la terapia génica de administración de la leptina intramuscular a ratones ob/ob ocasiona una disminución de la ingesta alimentaria y del peso corporal o la introducción del gen de la leptina mediante el uso de vectores virales, que permiten que se expresen mayores cantidades de leptina (31, 33).

## CONCLUSIONES

- Los niveles séricos de leptina e insulina fueron significativamente más altos en la población de obesos que en los no obesos. Los niveles séricos de leptina e insulina estuvieron directamente relacionados con el aumento del Índice de Masa Corporal (IMC)
- El nivel sérico de leptina fue mayor en mujeres que en hombres independiente del IMC.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Cahill GF Jr. Starvation in man. *N.Engl.J.Med.*1970;282 (12):668-75
2. SEEDO - SEEDO 2000. Consensus for the evaluation of overweight and obesity and the assessment of obesity management. *Med Clin* 2000; 115:587-597.
3. Martinez JA, Fruhbeck G. Regulation of energy balance and adiposity: a model with new approaches. *J Physiol.Biochem.*1996;52:255-258.
4. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse gene and its humans homologue. *Nature.*1994;372:425-432.
5. Ahima RS, Pravarkarian D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier. Role of leptin in the neuroendocrine response of fasting. *Nature.* 1996; 382: 250-252
6. Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH et al. Decrease cerebrospinal fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism of leptin resistance. *Lancet* 1996; 348:159-61.
7. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce M. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal weight and obese humans. *N.Eng. J. Med.*1996; 334: 292-95.
8. Montague CT, Sadaf Farooqi J, White-Head y col. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature.*1997;387:903-908.
9. Kennedy A, Gettys TW, Watson P y col. The metabolic significance of leptin in humans. Gender-based differences in relationship to adiposity, insulin sensitivity and energy expenditure. *J.Clin. Endocrinol. Metab.*1997;82 : 1293-97.
10. Stephens TW, Basinski M, Bustoril K. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action in the obese gene product. *Nature.*1995; 377: 530-532.
11. Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease : a review of current evidence. *Ann Intern Med.* 1999; 130:671-80.
12. Schwartz MW, Baskin DG, Kaiyala KJ, Wooda SC. Model for the regulation of energy balance and adiposity by the central nervous system. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69:584-96
13. Pérez F, Santos JL, Albala C, Calvillán M, Carrasco E. Asociación obesidad y leptina en tres poblaciones aborígenes de Chile. *Rev.Med. Chile.* 2000;128:45-52
14. Ravussin E, Pratley RE, Maffei M et al. Relatively low plasma leptin concentrations precede weight gain in Pima Indians. *Nat. Med* 1997; 3: 328-40.
15. Figueredo R. Prevalencia de Obesidad y Distribución de grasa corporal en Asunción y Área Metropolitana (Tesis Doctoral). Facultad de Ciencias Médicas, Asunción, Paraguay, 1997.
16. WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. In: Report of a WHO Consultation on Obesity. Gêneva 3-5 June, 1997. WHO 1998:1-276.
17. Lean MEJ, Han TS, Morrison CE. Waist circumference as a measure for indicating need for weight management. *BMJ.*1995;311: 158-61.
18. Hulley S, Cummings S. Diseño de la Investigación clínica. Un enfoque epidemiológico. Harcour Brace. España S.A.1997; 154-158. Apéndice 13 A.
19. Pisabarro R, Irrazabal E, Recalde A, Barrios E, Arrocena A, Aguirre B, Garcia J, Bonifazi JL. Leptina: Hormona secretada por el tejido adiposo. Primer estudio en muestra poblacional uruguaya. *Rev. Médica.Uruguay* 1999; 15: 43-48.
20. Bray G. Physiology of leptin. UpToDate (online) 2005 (fecha de acceso 9 de mayo de 2005). Disponible en: [www.utdol.com](http://www.utdol.com). 16
21. Albala, C et al. Relación entre leptina e insulina sanguíneas en mujeres chilenas obesas y no obesas. *Revista Médica de Chile.*2000;128 :154.
22. Segal KR, Landt M, Klein S. Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes.*1996;45:988- 991.
23. Dua A, Hennes M, Hoffman R, Maas D, Krakower G, Sonnenberg G, Kissebaha A. Leptin: a significant indicator of total body fat but not of visceral fat and insulin insensitivity in African-American women. *Diabetes* 1996;45:1635-1637.
24. Ryan A, Elahi D. The effects of acute hyperglycemia and hyperinsulinemia on plasma leptin levels: its relationships with body fat, visceral adiposity and age in women. *J. Clin. Endocrinol Metab* 1996; 81: 4433-8.
25. Ostlund R, Yang J, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *L Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3909-13
26. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culperpper J, Devos R et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor ObR. *Cell.*1995;83: 1-20.
27. Fruhbeck G, Jebb SA, Prentice AM. Leptin: physiology and pathophysiology. *Clin. Physiol.*1998;18:399-419.

28. Van Gaal LF, Wauters MA, Mertens IL, Considine RV, De Leeuw IH. Clinical Endocrinology of human leptin. *Int.J.Obesity*.1999; 23:29-36.
29. Jeanrenaud FR, Jeanrenaud B. Obesity leptin and the brain. *New England J. Med.*1996;334 :324-325.
30. Shimizu H, Shimomuna , Hayashi R, Ohtami K ,Sato N, Futawatari T. et al. Serum leptin concentration is associated with total body fat mass, but not abdominal fat distribution. *Int J Obesity* 1997;21:535-45.
31. Marti A, Novo FJ, Martinez-Anso E, Zaratiequi M, Aguado M, Martinez JA .Leptin gene transfer into muscle increases lipolysis and oxygen consumption in white fat tissue in ob/ob mice. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 246: 859-62.
32. Zimmet P,Collins MP,Hodge AM, Collier GR, Dowae GK,Alberti K.Is there a relationship between leptin and insulin sensitivity independent of obesity? A population-based study in the Indian Ocean Nation of Mauritius. *Int J Of Obesity* 1998; 22: 171-7
33. Morsy MA, Gu M, Motzel S, Zhao J .et al An adenoviral vector deleted for all viral coding sequences results in enhanced safety and extended expression of a leptin transgene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95.