



UNIVERSITAT DE BARCELONA  
Divisió de Ciències Experimentals i Matemàtiques  
Facultat de Biologia  
Departament de Bioquímica i Fisiologia

# **Estudi calorimètric del balanç energètic en l'obesitat genètica i nutricional de la rata**

Treball que presenta

**Immaculada Rafecas Jorba**

per optar al grau de Doctora en Ciències Biològiques.

Barcelona, juny de 1992

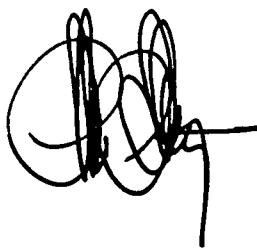


La interessada:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Immaculada Rafecas Jorba', written in a cursive style.

Immaculada Rafecas Jorba

Vist i Plau,  
El Director de la Tesi:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Dr. Marià Alemany Lamana', written in a cursive style.

Dr. Marià Alemany Lamana  
Catedràtic de Bioquímica i Biologia Molecular  
de la Universitat de Barcelona



***Al Francesc, esperant que un dia  
entengui el per què i al Pere, per...***



Des d'aquestes quatre ratlles vull donar les gràcies a totes aquelles persones que directa o indirectament m'han ajudat a dur a terme aquest treball, o que senzillament han estat a prop meu durant aquest temps. En especial a la meva mare, per encoratjar-me a seguir estudiant malgrat les circumstàncies més adverses; al meu marit, en Pere, i al meu fill, en Francesc, als qui no puc fer menys si no dedicar-los aquest treball, que tantes hores ens ha robat. Als meus germans i família, i fins i tot als qui no han tingut prou paciència per esperar a veure l'acabament d'aquest treball...

Però no cal ni dir que aquest treball no hagués estat realment possible sense la ferma direcció del Prof. Dr. Marià Alemany, i no només pels seus savis consells si no sobretot pel seu bon humor. Ni per l'estreta col·laboració amb la tesi complementaria d'aquesta, dirigida pel Dr. Xavier Remesar, amb qui tantes hores hem passat discutint el treball i que de tants apuros ens ha tret.

Una de les coses més positives i gratificants que ha implicat la realització d'aquest treball ha estat l'amistat. I una gran amistat és la que hi ha amb la meva companya Montse Esteve, a qui vaig conèixer en iniciar aquest treball i amb qui he compartit tots els moments, bons i dolents, del mateix. Amistat que ens ha fet compartir també molts esdeveniments a nivell personal. Així mateix vull fer esment d'un company de sempre, però amb qui últimament tenim una estreta col·laboració, el Dr. José-Antonio Fernández-López, a qui agraeixo, sobre tot, les seves dosis d'optimisme.

A altres companys, sobretot del mateix grup de recerca, agraeixo la seva amistat i col·laboració, companys d'ara i d'altres èpoques com són la Teresa D., l'Alicia, el Miguel, l'Esther, la Neus, la Marga D., el Joan, el Daniel C., el Javi, la Núria, el Dani, l'Anna, la Cristina, el Xavi, el Jordi, la Mar, la Kika, etc. Així com altres companys amb qui he compartit el mateix laboratori: el Bam, el JoanVi, la Mireia, l'Andreu, i gent d'altres laboratoris com la Cèlia, la Marta, etc, a part d'altres personatges del Departament de Bioquímica i Fisiologia que sempre recordaré.

També vull esmentar a dues companyes de la carrera, a qui tinc poques oportunitats de veure, però que malgrat això i sense potser ni saber-ho m'han animat sempre a tirar endavant, són la Montse Barbany i la Rosa M<sup>a</sup>. Massanés.

Aquest treball ha pogut ser realitzat gràcies a subvencions de la CICYT (Projecte PB86-0512), Instituto de Estudios Documentales del Azúcar i la CIRIT, que em va concedir un ajut d'iniciació a la recerca.





# ÍNDIX

PRESENTACIÓ .....	3
OBJECTIUS .....	5
PLANTEJAMENT EXPERIMENTAL .....	7
INTRODUCCIÓ .....	11
1. CONTROL DEL PES CORPORAL .....	13
1.1 Evidències .....	13
1.2 Plantejaments teòrics del balanç energètic .....	13
1.3 Mesura del balanç energètic .....	14
1.3.1 Mesura de l'energia ingerida .....	14
1.3.2 Mesura de l'energia emmagatzemada al cos .....	15
1.3.3 Mesura de les pèrdues de calor i treball extern .....	16
1.4 Control de la ingesta .....	16
1.4.1 El tub digestiu .....	17
1.4.2 Temperatura ambient .....	17
1.4.3 Activitat física .....	17
1.4.4 Composició de la dieta. Teories sobre el control .....	18
1.5 Control de la despesa energètica .....	19
1.5.1 Formes de les pèrdues de calor o termogènesi .....	19
1.5.2 Mecanismes bioquímics de la termogènesi adaptativa .....	25
1.5.3 Taxa metabòlica i pes corporal .....	32
1.6 Control hormonal del balanç energètic .....	33
1.6.1 Insulina i glucagó .....	33
1.6.2 Hormones tiroïdees .....	33
1.6.3 Hormones sexuals .....	35
1.6.4 Glucocorticoides .....	36
1.6.5 Altres hormones .....	36
1.7 Control neural del balanç energètic .....	37
1.7.1 Paper del sistema nerviós central (SNC) .....	37
1.7.2 Paper del sistema nerviós perifèric .....	39
2. L'OBESITAT .....	41
2.1 Definició .....	41
2.2 Desenvolupament històric de les idees científiques .....	42
2.3 Classificació .....	42

2.3.1 Per les característiques anatòmiques del teixit . . . . .	42
2.3.2 Segons l'edat d'aparició . . . . .	43
2.3.3 Segons la intensitat de l'obesitat: quantificació . . . . .	43
2.3.4 Classificació etiològica . . . . .	44
2.4 Models animals . . . . .	49
2.4.1 Models d'obesitat genètica . . . . .	49
2.4.2 Models d'obesitat hipotalàmica . . . . .	53
2.4.3 Models d'obesitat dietètica . . . . .	55
2.5 Regulació Hormonal . . . . .	56
2.5.1 Insulina . . . . .	56
2.5.2 Glucocorticoides . . . . .	57
2.5.3 Hormona del creixement . . . . .	57
2.5.4 Hormones tiroïdees . . . . .	58
2.5.5 Hormones sexuals . . . . .	58
2.6 Metabolisme: alteracions . . . . .	59
2.6.1 Metabolisme glucídic . . . . .	59
2.6.2 Metabolisme lipídic . . . . .	59
2.6.3 Metabolisme proteic . . . . .	60
3. CALORIMETRIA . . . . .	61
3.1 Equació del balanç de calor . . . . .	61
3.2 Calorimetria directa . . . . .	61
3.2.1 Precedents . . . . .	61
3.2.2 Tipus d'aparells calorimètrics (directes) . . . . .	62
3.2.3 Característiques del calorímetre (directe) emprat . . . . .	63
3.3 Calorimetria indirecta . . . . .	63
3.3.1 Precedents . . . . .	63
3.3.2 Bases teòriques de la calorimetria indirecta d'anàlisi de gasos . . . . .	65
3.3.3 Aparells d'anàlisi de gasos . . . . .	67
3.3.4 Altres tipus de calorimetria indirecta . . . . .	68
4. BIBLIOGRAFIA . . . . .	71

## PART EXPERIMENTAL

<b>BLOC I: Estudi d'efectes termogènics de la ingesta . . . . .</b>	<b>89</b>
I.A) The thermogenic effect of a sucrose gavage on the fa/fa rat . . . . .	91
I.B) Dietary supplementation of sucrose fails to modify fat deposition in lean or obese rats . . . . .	99
I.C) The effect of cafeteria-feeding on energy balance in Wistar and in lean and obese Zucker rats . . . . .	105
—Comentari general al bloc I . . . . .	119

<b>BLOC II: Establiment de les condicions de treball en estudis de calorimetria indirecta</b> . . . . .	121
II.A) Analysis of supradian heat production and core temperature rhythms in the rat . . . . .	123
II.B) Water balance of obese Zucker rats . . . . .	137
II.C) Indirect calorimetry estimation of carbohydrate and lipid consumption in obese rats . . . .	149
—Comentari general al bloc II . . . . .	171
<b>BLOC III: Dinàmica dels greixos en l'animal obès intacte.</b> . . . . .	173
III.A) Fatty acid utilization by young Wistar rats fed a cafeteria diet . . . . .	175
III.B) Deposition of dietary fatty acids in young lean and obese Zucker rats	
. fed a cafeteria diet . . . . .	191
III.C) Lipid synthesis: a thermogenic mechanism in cold-exposed Zucker fa/fa rats . . . . .	211
—Comentari general al bloc III . . . . .	219
<b>CONCLUSIONS</b> . . . . .	221



PRESENTACIÓ  
OBJECTIUS  
PLANTEJAMENT EXPERIMENTAL





## PRESENTACIÓ

Aquest treball ha estat realitzat al Departament de Bioquímica i Fisiologia, Unitat B, de la Universitat de Barcelona, ubicat a la Facultat de Biologia. S'emmarca dins una línia de recerca endegada fa uns anys pel Dr. M. Alemany, director d'aquest projecte de tesi doctoral. Aquesta línia té com a objectiu principal l'estudi dels mecanismes de control del pes corporal, objectiu que es concreta en l'estudi de les causes bioquímiques i fisiològiques de l'obesitat, estudi que es duu a terme enfocant el problema des de diferents punts de vista i a diferents nivells. Així aquest treball en concret, realitzat en estreta col·laboració amb la meua companya i amiga Montse Esteve (que sota la direcció del Dr. X. Remesar ha realitzat un estudi en paral·lel, centrat principalment en qüestions de balanç nitrogenat) ha estat una altra etapa d'aquest projecte global que desenvolupa un tema tant apassionant i d'interès pràctic, científic i social.

El cas concret d'aquesta tesi que ens ocupa, ha estat l'enfocament essencialment "in vivo" dels efectes metabòlics de dos models animals d'obesitat que són complementaris quant a les causes i efectes: l'obesitat per un defecte genètic transmès hereditàriament i la generada per un increment extraordinari de l'ingestió d'aliments agradables i rics en energia. Hem enfocat el problema a nivell de tot l'animal, fent mesures de balanç energètic i desenvolupant i posant a punt una sèrie d'eines bàsiques metodològiques per tal de poder dur a terme aquesta tasca.

En tot el treball realitzat, els aspectes metodològics, de precisió redundants de les mesures i el control de les fonts d'error ha estat una constant essencial, dins d'un context eminentment quantitatiu de les mesures, aplicant en tots els casos la metodologia més adequada —sovint desenvolupada per nosaltres— per tractar de respondre les qüestions fisiològiques que ens ocupen al nivell i extensió plantejats.





## OBJECTIUS

Per tal de poder realitzar un plantejament seqüencial, coherent i ordenat del treball a realitzar ens vam marcar una sèrie progressiva d'objectius, entre els quals podem destacar, en primer terme, l'aconseguir aparells de mesura de la producció de calor dels animals, que o bé no estan comercialitzats (calorímetre directe), o bé no estan pensats per utilitzar en animals (sistema de calorimetria indirecta). A continuació, ens vam plantejar seleccionar els models d'obesitat a estudiar, que van ser, per una banda l'obesitat induïda per la dieta (realitzat amb l'administració d'una dieta de "cafeteria") i per una altra l'obesitat genètica (rates de la soca Zucker fa/fa). En segon lloc ens vam plantejar aplicar tot aquest conjunt a diferents situacions relacionades amb la termogènesi induïda per la dieta, com ha estat l'administració d'alguns aliments individualitzats o la massiva aportació energètica de la dieta de cafeteria. Un punt essencial ha estat el comprovar l'eventual efecte additiu dels dos models d'obesitat estudiats: genètic i hiperfàgic, subministrant la dieta de cafeteria a rates genèticament obeses. Donat que el greix és acumulat de manera extraordinària per aquests animals es va decidir estudiar el seu balanç en l'obesitat, de manera paral·lela a l'estudi del metabolisme nitrogenat en l'animal sencer que hem desenvolupat amb Montse Esteve.

Els objectius finals plantejats han estat, doncs, els següents :

### A) Objectius de desenvolupament metodològic.

A.1) Disseny, desenvolupament, construcció i comprovació d'un calorímetre adiabàtic de temps curt de resposta i alta sensibilitat per rates.

A.2) Disseny, desenvolupament i calibració d'un sistema de mesura de gasos en sèrie amb càmera termostatitzada, per la mesura de dades de calorimetria indirecta i balanç d'aigua, de temps curt de resposta i alta sensibilitat, aplicable a rates.

### B) Aplicació a l'estudi de la termogènesi i dinàmica d'utilització de substrats *in vivo*.

B.1) Estudi diferencial del balanç energètic en l'obesitat genètica i induïda per la dieta, comprovació dels eventuais efectes additius d'ambdós models experimentals.

B.2) Efecte de l'administració de sacarosa sobre la termogènesi induïda per la dieta.

B.3) Determinació del destí/utilització dels àcids grassos de la dieta en els dos models d'obesitat, centrant l'estudi en el balanç energètic complet d'àcids grassos.

B.4) Efecte del fred sobre els mecanismes de síntesi d'àcids grassos, avaluació de la lipogènesi com a element termogènic adaptatiu potencial.



## PLANTEJAMENT EXPERIMENTAL

A fi de poder assolir els objectius establerts, es va fer un plantejament experimental en el que es contemplava, a més del propi disseny experimental, els tipus d'animals a utilitzar i les dietes. Així com el fet de poder anar millorant els protocols a seguir a mesura que aquests s'anaven aplicant, de manera que constituïen un sistema obert i flexible, que es podia anar variant segons les necessitats del moment. És a dir, el protocol inicial es va aplicar parcial i progressivament, de manera que els mètodes es desenvolupaven en paral·lel a les aplicacions, de les que en sortia la necessitat de desenvolupar-los.

Quant als animals utilitzats, pertanyien a tres grups diferents: rates de la soca Wistar, rates de la soca Zucker genèticament obeses ( fa/fa ), o rates primes ( fa/? ) de la soca Zucker. Les rates de la soca Wistar es van estudiar com a model universal, ja que constitueix una soca molt utilitzada en estudis de laboratori i sobre la que disposem de moltes dades. Les rates Zucker obeses es van seleccionar com a model d'obesitat espontània, és a dir, transmesa genèticament, ja que aquesta soca és un dels models més estudiats amb aquestes característiques. Pel que fa a la utilització d'animals primis d'aquesta mateixa soca, correspon a la necessitat de tenir uns animals com a control de soca, és a dir, que ens permetin discernir si una determinada diferència entre les rates Wistar i les obeses es deu a l'obesitat o simplement a una característica diferencial d'ambdues soques.

Durant el període estudiat els animals es van mantenir sota una dieta control, formada per pinso comercial de la casa Panlab, del tipus A04 i aigua de beguda, o bé sota una dieta de les anomenades de "cafeteria", que ens permeten aconseguir animals amb un grau moderat d'obesitat, per un mètode no estressant per l'animal i que guarda molta similitud, quant a varietat i diversitat de gustos, amb les dietes que es consumeixen actualment en molts països occidentals. A més de comparar aquesta obesitat induïda per la dieta amb l'obesitat genètica, ens va interessar veure si la suma d'aquests dos models, obesitat dietètica i genètica, presentava característiques comunes o eren sinèrgiques o potenciadores, així com si simplement es sumaven o sobreposaven.

Aquests animals eren estudiats a l'edat de 59-60 dies, edat a la qual estan arribant a la maduresa, és a dir, ja són animals adults, però encara no ha acabat el seu creixement; aquest fet ens va permetre d'estudiar amb més efectivitat els efectes de la dieta sobre la deposició de proteïnes i lípids. Pel que fa al sexe dels animals utilitzats era, en tots els casos, femelles, a fi de no augmentar la variabilitat deguda al sexe, ja que l'obesitat, per sí, ja constitueix una síndrome prou complexa, que afecta molts paràmetres a l'hora.

Les mesures realitzades han estat fetes, per una banda, amb l'animal *in vivo* i *in toto*, realitzant mesures del bescanvi gasós i de calorimetria directa, fet que ha obligat a desenvolupar una sèrie de metodologies i a comprovar l'existent, quan hom s'ha trobat amb diferències entre els diferents mètodes. Per això hem donat molta importància als estudis quantitius i a l'avaluació de dades complementàries, gairebé redundants en ocasions, però que ens donen un grau més alt de fiabilitat.

Dins aquest plantejament d'estudis de balanç energètic ens vam plantejar l'avaluació dels efectes dels components de la dieta sobre la termogènesi adaptativa. Així vam estudiar l'efecte de la sacarosa sobre el balanç energètic, és a dir, veure per una banda, si l'administració aguda de sacarosa té efectes sobre la termogènesi induïda per la dieta en situació prandial o sota la privació d'aliments. I per altra, si la suplementació crònica amb sacarosa promovia una deposició més marcada d'algun dels components corporals, en especial de lípid, així com veure si tenia algun efecte sobre la producció de calor.

La calorimetria indirecta ens plantejava la necessitat d'eliminar - o bé mesurar i tenir en compte- l'aigua evapo-transpirada per l'animal per tal d'evitar errors. L'opció de mesurar-la ens va permetre comprovar que aquesta és una font de pèrdues de calor que no està inclosa en la mesura de la calorimetria directa, doncs constitueix una pèrdua insensible de calor. Amb l'aplicació de la calorimetria indirecta podem saber, a més, el tipus de substrat que s'està oxidant en un moment determinat i per tant l'aigua metabòlica derivada d'aquesta oxidació. Les dades d'aigua evapo-transpirada i metabòlica ens van permetre, així, completar l'estudi del balanç hídric d'aquests animals.

Un altre punt que ens vam plantejar va ser la necessitat o no de realitzar les mesures de calorimetria a temps relativament llargs, perquè fossin representatius, fet que encara prenia més rellevància al tenir en compte la possible existència de ritmes de producció de calor. Aquest aspecte es va resoldre realitzant totes les mesures a la mateixa hora i analitzant la presència i importància d'aquests ritmes.

Per l'altra, l'anàlisi dels components elementals i energètics del cos dels animals, juntament amb la mesura de la ingesta ens va permetre realitzar estudis de balanç. Per tal de poder mesurar la ingesta, així com recollir les femtes i les orines, un grup d'animals es van mantenir en gàbies metabòliques des dels trenta als seixanta dies d'edat, període en el qual es realitzava el seguiment diari dels animals. Els animals eren sacrificats als 30 dies d'edat ( inici del tractament ), 45 ( dia central del període estudiat ) o als 60 dies ( final del període ), mesurant-se la seva composició corporal ( en glúcids, lípids, proteïnes i aigua ) en les tres edats esmentades, així com la composició en àcids grassos dels seus lípids corporals, lípids que -no podem oblidar- representen el principal substrat acumulat en l'obesitat. En el treball desenvolupat paral·lelament a aquest per na Montserrat Esteve, es va determinar la composició en aminoàcids de les seves proteïnes. Això, juntament amb una anàlisi paral·lela dels aliments ingerits, ens va permetre determinar el balanç energètic, d'àcids grassos ( i aminoàcids ) en dos períodes: dels 30 als 45 dies i dels 45 als 60 dies. Aquests balanços d'àcids grassos i aminoàcids ens van fer possible conèixer quina era l'estada de l'àcid gras o aminoàcid promig oxidat per cada animal, cosa que ens va permetre reconsiderar les fórmules aplicables als càlculs de calorimetria indirecta, tenint en compte, a més, que s'havien d'utilitzar en el cas concret de l'obesitat on hi ha una síntesi massiva de lípids.

Una qüestió important a considerar va ser l'estudi de la resposta dels animals a l'exposició a diferents temperatures, ja que s'ha descrit que els animals genèticament obesos tenen una certa incapacitat de sobreviure en condicions de fred, però per una altra banda, hi ha estudis que mostren certa habilitat de les rates Zucker per mantenir-se en condicions menys severes. Segons això, la qüestió que ens vam plantejar va ser el determinar si les rates obeses consumien més substrats energètics sota els efectes del fred i quins substrats oxidaven, una pregunta que va poder ser

contestada mitjançant la utilització de la calorimetria indirecte.

Bona part dels resultats obtinguts amb aquest plantejament experimental han estat completats en forma adequada per a la seva publicació en revistes científiques, raó per la qual hem optat per presentar les dades en aquesta forma, donat que considerem que és la més directa, adequada i efectiva de comunicació dels resultats de la nostra investigació. De tota manera, a fi de donar un fil d'unitat al conjunt hem optat per presentar la tasca realitzada en tres blocs de tres treballs científics cadascun. Aquesta presentació es basa més en un plantejament temàtic i formal que no pas en un de cronològic, car la gestació de bona part del treball que aquí ara es presenta s'ha anat fent de manera paral·lela, seguint criteris de disponibilitat dels materials (instruments de mesura, rates obeses...) en lloc de continuar un desenvolupament potser més harmònic des del punt de vista conceptual.

Els tres blocs esmentats comprenen:

#### I - ESTUDI D'EFFECTES TERMOGÈNICS DE LA INGESTA.

En aquest bloc es presenten les dades corresponents al nostre estudi dels efectes de la dieta de cafeteria sobre les rates primes i obeses a més d'una sèrie d'experiments puntuals que vam realitzar per determinar si la sacarosa podia tenir efectes sobre la termogènesi induïda per la dieta que no estiguessin directament relacionats amb el seu contingut calòric. Aquesta sèrie de treballs és la que des d'un punt de vista cronològic correspon a l'època del començament del nostre estudi de la termogènesi en l'obesitat de la rata.

#### II - ESTABLIMENT DE LES CONDICIONS DE TREBALL EN ESTUDIS DE CALORIMETRIA INDIRECTA

Aquest conjunt agrupa tres treballs amb un component metodològic molt important, que ha estat desenvolupat en èpoques ben diferents, ja que es plantegen una sèrie d'experiments fets essencialment amb calorimetria directa, on es va posar de manifest l'existència de importants variacions en la producció global de calor en la rata al llarg del dia: presentant-se diversos ritmes circadians i supradians. Per altra banda, la necessitat de desenvolupar un sistema efectiu de mesura de la utilització de substrats en l'animal intacte, ens va dur a desenvolupar un seguit d'esmenes i correccions puntuals a la metodologia ja disponible. En aquesta tasca ens hem auxiliat en bona mesura de resultats obtinguts de manera paral·lela en la determinació de balanços de substrats (tercer bloc i tesi de Montserrat Esteve). Com a coda d'aquest estudi presentem una anàlisi comparativa del balanç d'aigua en l'obesitat.

#### III - DINÀMICA DELS GREIXOS EN L'ANIMAL OBÈS INTACTE.

En aquesta part ens centrem en l'anàlisi del destí dels àcids grassos de la dieta, mesurat a partir d'un plantejament clàssic d'estudi de balanços: és a dir, mesurant les entrades i la deposició. L'estudi s'ha fet en paral·lel en rates de la sota Wistar i en les Zucker, tant obeses com primes. Aquest estudi "estàtic" on mesurem l'estat estacionari, ha estat complementat amb un estudi molt puntual del ritme d'oxidació de greixos per fer front a la pressió ambiental en forma de fred, mesurat mitjançant calorimetria indirecta.



# INTRODUCCIÓ







# 1. CONTROL DEL PES CORPORAL

## 1.1 Evidències

Donat que el contingut de greix varia amplament tant en un mateix individu en diferents moments de la seva vida, com comparant diferents individus, això podria fer pensar que el pes corporal no és una funció ben regulada, en el mateix sentit que ho són altres paràmetres corporals com ara la temperatura. Però, la precisió amb la que una funció homeostàtica és regulada depèn dels límits que permeten la supervivència, els quals són més estrets per la temperatura però considerablement més amplis pel pes corporal o pel contingut energètic del cos (Rothwell i Stock, 1982).

Són nombrosos els experiments i observacions que porten a la conclusió que existeix un control sobre el pes corporal; així doncs, el control del pes corporal seria un més dels mecanismes homeostàtics que funcionen en el nostre organisme. Així per exemple, en el ja clàssic treball de Sims et al. (1973) hom induïa la ingesta de grans quantitats d'aliments en presoners per tal d'estudiar l'aparició d'obesitat experimental en humans, es va trobar que els augments de pes obtinguts eren globalment molt baixos. Per altra banda, experiments realitzats en humans durant la Segona Guerra Mundial, en els que els individus eren sotmesos voluntàriament a ingestes molt baixes, es va demostrar que podien mantenir el seu pes corporal sense dificultats, només una mica més baix del pes inicial. Una observació comú en aquest mateix sentit és la de que la major part de gent que es sotmet a dietes hipocalòriques, només aconsegueix de perdre una certa quantitat de pes, malgrat continuar restringint la seva ingesta molt de temps, així com el fet de que el pes perdut es recupera ràpidament quan hom abandona la dieta hipocalòrica.

El pes corporal està estretament regulat dins d'uns marges molt limitats, per tal d'aconseguir un funcionament òptim de l'organisme. Cal tenir en compte que el sobrepes dificulta la mobilitat i ocasiona un consum energètic més gran en moure's (Blomm i Eidex, 1967), així com insuficiències a nivell dels sistemes cardiovascular i respiratori per fer front a les necessitats d'un cos de mida anormalment gran (Vaughan i Conahan, 1980). De manera similar el sistema esquelètic i locomotor es veuen afectats, especialment els ossos, que poden deformar-se, trencar-se o desgastar-se amb més facilitat degut a l'excés de pes. En sentit invers, és a dir, un pes massa baix, també pot comportar problemes per a l'organisme, ja que implica una manca de reserves lipídiques que podrien dificultar la supervivència en èpoques de manca d'aliments (James i Trayhurn, 1976). Una capa aïllant de greix massa prima també dona poca protecció contra el fred (Jéquier et al., 1974), la subnutrició i les reserves de greix baixes malmeten la capacitat de fer front a l'exposició al fred (Campbell i Richardson, 1988).

## 1.2 Plantejaments teòrics del balanç energètic

Les variacions que pugui haver en el pes corporal són, per regla general, el reflex de variacions del seu contingut energètic i, per tant, una conseqüència d'alteracions de l'equilibri entre les entrades i sortides d'energia de l'organisme, concepte que podem expressar de diferents maneres en el que

anomenem equació del balanç energètic:

*Aliment ingerit = treball realitzat + despesa energètica + energia emmagatzemada* (Brobeck, 1981)

O també, de manera similar, però desglossant la despesa energètica en les seves diferents formes:

$$M = R + C + K + E + W + S \quad (\text{Kayser, 1964})$$

On M és l'energia d'entrada (ingerida)

R és la calor perduda en forma de radiació

C en forma de convecció

E per evaporació

W el treball extern realitzat

i S l'energia emmagatzemada al cos

Es dedueix fàcilment que en el cas que hi hagi un canvi en el contingut energètic del cos, el balanç no pot ser mai igual a zero, d'acord amb la primera llei de la Termodinàmica. Com hem vist però, aquest balanç energètic s'apropa a zero en la vida adulta, és a dir, l'organisme està prop de l'equilibri energètic. Aquest fet no implica que estigui en estat estacionari, sinó que es manté en un equilibri dinàmic (Blaxter i Wainman, 1961).

### 1.3 Mesura del balanç energètic

Donades les diferents característiques de cada terme de l'equació del balanç energètic, la mesura d'aquests termes s'ha de realitzar per mètodes diferents:

#### 1.3.1 Mesura de l'energia ingerida

L'energia que entra a l'animal ho fa en forma d'aliments, però no podem utilitzar directament el total d'energia continguda per aquests aliments, sinó que cal tenir en compte els diferents "nivells" de l'energia ingerida:

a) Energia ingerida bruta: és aquella que es mesura cremant l'aliment en una bomba calorimètrica i mesurant la calor despesa. Aquest procediment transforma l'aliment totalment en aigua, diòxid de carboni i altres compostos inorgànics. Però això no és exactament el que passa en un organisme viu, ja que, per exemple, una part dels aliments ingerits no són absorbits.

b) Energia ingerida digerible: és la diferència entre l'energia bruta i l'energia continguda a l'aliment no digerit —i per tant no absorbit—, és a dir, el que es perd amb la femta; format principalment per la fibra. Cal tenir en compte que aquesta no és una característica de l'aliment per se, sinó més aviat de l'animal que l'ingereix, ja que diferents tipus d'animals presenten diferents capacitats de digerir un mateix aliment; així per exemple, el que habitualment considerem fibra (glúcids no digeribles), pot ser digerit fàcilment pels remugadors.

c) **Energia ingerida metabolitzable:** és l'energia que l'organisme té realment disponible per realitzar totes les seves funcions; s'obté de restar de l'energia ingerida disponible les pèrdues energètiques que són conseqüència de l'oxidació incompleta de les proteïnes i altres materials nitrogenats en el cos, i que resulten, entre d'altres, en l'excreció d'urea, creatinina i àcid úric a l'orina.

Així doncs, podem considerar que l'energia ingerida que ens interessa quantificar a efectes del balanç energètic és l'energia ingerida metabolitzable. Existeixen però problemes metodològics per fer-ne una mesura precisa. La manera més evident fóra restar, de l'energia bruta dels aliments les pèrdues d'energia per la femta i l'orina, mesurats mitjançant una bomba calorimètrica. Aquest procediment però no està exempt de problemes tècnics, així l'orina, per exemple, té un elevat contingut d'aigua i el procés d'assecat pot volatilitzar alguns components que contenen energia.

Una mesura aproximada de l'energia metabolitzable la podem obtenir a partir de la composició dels aliments que diferents autors han compilat en taules de composició dels aliments. Probablement les més extensives i verificables són les de McCance i Widdowson, revisades posteriorment per Paul i Southgate (1978), que han estat utilitzades per altres autors (Rothwell i Stock, 1979), ja que constitueixen les taules estàndard al Regne Unit, mentre que als USA s'utilitzen les de Merrill i Watt (1955). Els valors per l'estimació de l'energia metabolitzable ingerida varien segons les taules utilitzades; les diferències són importants, sobre tot respecte de les fruites i altres aliments d'origen vegetal (Blaxter, 1989),

L'energia metabolitzable també es pot determinar a partir de la proporció relativa dels nutrients, determinada mitjançant una anàlisi química i l'efectivitat de la seva utilització promig pel cos (Paul i Southgate, 1978), utilitzant un equivalent calòric per les proteïnes que tingui en consideració la seva oxidació parcial en l'organisme. De totes maneres, els mètodes utilitzats per Paul i Southgate (1978) per estimar l'energia metabolitzable de dietes per humans sostenen que els glúcids no disponibles no tenen valor nutritiu i que els factors per proteïna, lípid i glúcid disponible són completament independents. Això és una simplificació del problema doncs s'ha demostrat que l'home pot metabolitzar part de les pentoses i cel·lulosa de la dieta (Southgate i Durnin, 1970) i que un augment en la quantitat de glúcids no disponibles interfereix en la digestió de lípids i proteïnes.

En el cas dels rumugadors s'ha de tenir en compte a més el metà i l'hidrogen produïts al tracte digestiu com a conseqüència de fermentacions microbianes. Aquests gasos són principalment eliminats com eructes o flatulències, però petites quantitats són absorbides i excretades pels pulmons.

### *1.3.2 Mesura de l'energia emmagatzemada al cos*

Per saber l'energia emmagatzemada al cos en un període de temps determinat cal conèixer la composició corporal a l'inici i al final del període estudiat, doncs la seva diferència correspon a la deposició de nutrients —i per tant d'energia— al cos, o més directament, per la combustió del cadàver de l'animal en una bomba calorimètrica. La mesura de la composició corporal es pot plantejar des de diferents punts de vista. Així alguns autors simplifiquen el plantejament estudiant sols dos components: la part lipídica i la part no lipídica, formada principalment per aigua, proteïnes i minerals (Rothwell i Stock, 1981). Pel que fa al total de glúcids corporals, normalment representen menys de

l'1% del pes corporal, de tal manera que el seu valor energètic es pot considerar insignificant com a reserva quantitativament important d'energia corporal, malgrat que les reserves de glúcids en forma de glicogen poden mantenir funcionant el metabolisme dels humans durant unes 10-12 hores fent front així a les demandes obligatòries de glucosa durant curts períodes d'inanició (Felig, 1973). Aquest mètode suposa acceptar que la composició de la massa lliure de greix és constant (Murray, 1922), però ben al contrari aquesta composició canvia, per exemple amb l'edat i la gestació, ja que amb l'edat disminueix el contingut d'aigua (Moulton, 1923) i en la gestació es dona un augment dels fluids extracel·lulars (Robinson, 1986). Altres autors han proposat estudiar certs índexs de massa cel·lular per tenir una idea aproximada de l'estat de deposició energètica, com és per exemple, la mesura del sodi i el potassi proposades per Cohn et al. (1983). De tota manera la forma més directa de realitzar aquesta mesura és analitzant químicament el contingut corporal dels components majoritaris del cos: glúcids, lípids i proteïnes. És un procés laboriós, que implica el sacrifici de l'animal i la posterior homogenització de la canal, i és per tant un mètode no aplicable directament a estudis en humans. A més, per saber l'energia acumulada en un període de temps determinat fan falta com a mínim dos animals, l'un utilitzat per conèixer la composició inicial i l'altre per la del final del període, ja que un mateix animal només pot ser sacrificat i analitzat una vegada.

### 1.3.3 Mesura de les pèrdues de calor i treball extern realitzat

Qualsevol tipus d'activitat física va lligada a una producció de calor induïda pel treball o exercici muscular, ja que en la contracció muscular, l'eficiència mecànica global del múscul esquelètic (treball realitzat respecte de la despesa total d'energia) arriba com a màxim fins a un 50% en aixecar un pes durant la contracció isotònica —treball efectiu contra la gravetat— i és essencialment nul·la durant la contracció isomètrica (Hoyle, 1970). Així tota la resta d'energia química consumida es desprèn en forma de calor (Buchta, 1942).

Degut a que el treball físic eventualment acaba convertit a una forma d'energia més degradada —fins a calor— l'energia gastada en aquesta activitat es pot expressar correctament en forma de calor equivalent. També cal tenir en compte que tota l'energia despesa per l'organisme en repòs es perd en forma de calor (Rubner, 1883). Així, aquesta és la forma d'energia emprada per expressar la quantitat d'energia consumida, emmagatzemada i gastada, de manera que la primera unitat per expressar l'energia en Nutrició va ser la caloria (cal), si bé actualment es tendeix a utilitzar les unitats del Sistema Internacional, el Joule (J) per expressar l'energia i el Watt (W) per la potència o energia per unitat de temps ( $1 \text{ W} = 1 \text{ J}\cdot\text{s}^{-1}$ ).

Per mesurar les pèrdues de calor o la seva producció en organismes vius hom pot utilitzar diferents tècniques calorimètriques, les quals són descrites amb detall més endavant (apartat 3).

## 1.4 Control de la ingesta

En general hom suposa que la ingesta energètica és el principal factor en la regulació del balanç energètic i que un control defectuós de la gana —per exemple la hiperfàgia— és la principal causa de l'obesitat en l'home i els animals experimentals (Rothwell i Stock, 1981). Però cal tenir ben clar el que volem dir amb el terme hiperfàgia o sobre-alimentació. Si volem dir que la ingesta és més

gran que la despesa energètica, caldria esperar que el contingut energètic corporal augmentés, i a la inversa per la hipofàgia. Però la confusió prové de quan la sobrealimentació es refereix a ingestes per sobre del nivell "normal" de la població (Rothwell i Stock, 1982).

La ingesta està molt ben controlada en molts animals, com per exemple en la rata (Snowdon, 1969), però aquest control no sembla ser tan eficient en humans. El control global és exercit pel cervell, a través del centre de la gana, localitzat a l'àrea ventro-medial de l'hipotàlem (Leibowitz, 1987), al qual arriben senyals perifèriques, que afecten el control a curt termini, i senyals d'altres parts del cervell, més implicats en el control a llarg termini (Alemany, 1989).

Alguns dels factors i senyals implicats en aquest control són:

#### *1.4.1 El tub digestiu*

El grau d'emplenat de l'estómac i de l'intestí s'ha demostrat que juga un paper important en el control de la ingesta, com ha estat observat mitjançant experiments de parabiosi, en els que s'entrecruaven els intestins de rates. Això posa de manifest l'existència de senyals de sacietat provinents del tracte gastro-intestinal, així s'ha identificat —entre d'altres— la colecistoquinina, una hormona peptídica que sembla jugar un paper important en determinar l'acabament dels àpats (Silver i Morley, 1990).

En aquest sentit, ja als anys 50 es descriuen els bypass en l'intestí prim per tal de tractar l'obesitat mòrbida (Henriksson, 1952), però aquest s'abandonen en favor de les operacions gàstriques (gastroplastia) cap als anys 70-80, com a mitjà de reduir la capacitat de l'estómac (Gomez, 1980). La restricció gàstrica també es pot aconseguir (temporalment) introduint elements que ocupen l'espai intra-gàstric, com són pilotes o "bombolles", però aquest sistema no sembla ser massa efectiu (Kral, 1988).

Així mateix la vagotomia té uns efectes retardadors del buidament dels sòlids de l'estómac i augmenta la velocitat de trànsit dels líquids, reduint la ingesta de líquids i la ingesta calòrica (Kral, 1983).

#### *1.4.2 Temperatura ambient*

La temperatura ambient baixa promou una despesa energètica més gran per compensar la temperatura externa; així una despesa elevada promou una ingesta més gran (Leung et al., 1976) mentre que les temperatures altes normalment inhibeixen parcialment la ingesta.

#### *1.4.3 Activitat física*

En general l'activitat física moderada té poc efecte sobre la ingesta, però l'exercici intens estimula la ingesta en animals experimentals i en l'home, com una forma d'adequar la ingesta calòrica a la despesa energètica de l'exercici (Woo i Pi-Sunyer, 1985) i mantenir així el pes corporal. Però en canvi això no sembla ser així en el cas de l'obesitat, doncs en els individus obesos la ingesta sembla estar regulada per altres factors diferents de la despesa energètica, donada la manca total d'efecte

de l'exercici sobre la ingesta en la majoria d'estudis (Pi-Sunyer, 1992). De tota manera cal tenir en compte que és molt difícil obtenir una mesura acurada de la ingesta en humans.

L'exercici —i la restricció calòrica— són de fet els tractaments més comuns i populars per reduir el pes corporal, ja que l'exercici promou un increment en la despesa energètica, però el pes perdut inclou normalment una part de greix així com de massa lliure de greix (Ball et al., 1967). Per altra banda s'ha comprovat que la pèrdua de pes induïda per ingestes baixes en calories provoquen una reducció en la taxa metabòlica (Mole et al, 1989). Una combinació d'ambdós tractaments sembla conduir a resultats variables: alguns estudis mostren que l'exercici té un efecte de conservació de la massa lliure de greixos durant la pèrdua de pes induïda per la dieta (Babirak et al., 1974) , mentre que l'exercici s'ha descrit tant que incrementa (Mole et al. 1989), com que no té efecte (Henson et al., 1987) sobre la taxa metabòlica basal en la restricció calòrica.

#### *1.4.4 Composició de la dieta. Teories sobre el control de la ingesta*

Està demostrat que les rates poden compensar dilucions de la densitat energètica de la dieta augmentant la quantitat total d'aliment ingerit i reduir la seva ingesta voluntària quan una part d'aliment se'ls administra mitjançant una sonda intra-gàstrica.

La composició de l'aliment també pot modificar la ingesta. Així les dietes hipoproteiques, o amb una composició d'aminoàcids inadequada tendeixen a fer baixar la ingesta. Però sobre tot els glúcids, la glucosa en particular, han estat directament implicats en el control de la ingesta, ja que la hipoglucèmia estimula la gana, dins d'un mecanisme homeostàtic que serveix per mantenir uns nivells òptims de glucosa en sang. Va ser aquesta observació la que va portar a l'enunciat de la hipòtesi glucostàtica del control de la ingesta. A aquesta van seguir altres teories sobre el control de la ingesta, algunes de les quals s'exposen a continuació:

##### *a) Teoria glucostàtica*

Va ser proposada per Mayer a l'any 1953 i va ser lleugerament modificada més tard, suggerint que més que els nivells de glucosa, el que determina la ingesta és la taxa d'entrada d'aquesta a les cèl·lules; això permetia explicar que individus amb els nivells de glucosa en sang molt alts per manca d'insulina —com és el cas de la diabetis— al no poder entrar la glucosa en les cèl·lules mostren ingestes elevades. Per altra banda, l'administració d'anàlegs no metabolitzables de la glucosa, com la 2-desoxi-glucosa, inhibeixen el metabolisme de la glucosa i provoquen hiperfàgia i obesitat. Però per altra banda, sembla difícil acceptar la glucosa com a element de control a llarg termini de la ingesta, degut a les grans variacions que experimenta la glucèmia d'un àpat a un altre; de totes maneres la glucosa pot tenir un paper important en el control de la gana i la sacietat a molt curt termini (Rothwell i Stock, 1982).

##### *b) Teoria lipostàtica*

És una de les teories de control de la ingesta més amplament acceptades, que considera els nivells de lípids corporals com la variable regulada i la ingesta com la variable controlada, de

manera que qualsevol desviació del nivell òptim produeix un canvi compensatori en la ingesta (Kennedy, 1953). El principal problema està en determinar com l'animal pot detectar els canvis en el contingut de greix. S'ha suggerit que s'ha d'originar algun tipus de senyal directament en els dipòsits de greix, com l'alliberament d'algun metabòlit, per exemple, àcids grassos .

Malgrat tot, alguns autors han abandonat el model tradicional de regulació de la ingesta d'aliments segons el qual una deficiència en algun nutrient forçava l'apetit pel nutrient que mancava, la ingesta del qual portava al re-emplenat en el nutrient concret i per tant a la sacietat. En contraposició a aquest model es proposa que la variable clau en el control de la ingesta seria l'alteració en la font dels combustibles metabòlics utilitzats durant les dues fases del procés d'alimentació, és a dir, la fase absorbiva i la post-absorbiva. En la primera s'utilitzen els aliments que s'estan consumint i que es troben en el tub digestiu, mentre que en la segona s'utilitzen els que ja estan acumulats com a reserves corporals. Per tant la ingesta restabliria el patró d'un subministrament predominant del tracte gastro-intestinal (Stricker i Verbalis, 1990).

## 1.5 Control de la despesa energètica

### 1.5.1 Formes de les pèrdues de calor o termogènesi

#### a) Producció obligatòria de calor o Taxa Metabòlica Basal (TMB)

Correspon a l'energia obligatòria mínima necessària pel manteniment de les funcions d'òrgans i cèl·lules en un animal en repòs mental i físic, conscient, mantingut a temperatura termoneutra i en estat postprandial (Benedict, 1938). No és el nivell de producció de calor més baix d'un animal viu, doncs aquesta correspon a l'animal adormit (Cabanac, 1975), o en situació de dejuni, etc. Però l'estandarització d'unes condicions basals (Dill, 1965) ens permet comparar les taxes metabòliques de diferents individus i espècies.

#### b) Termogènesi induïda pel fred

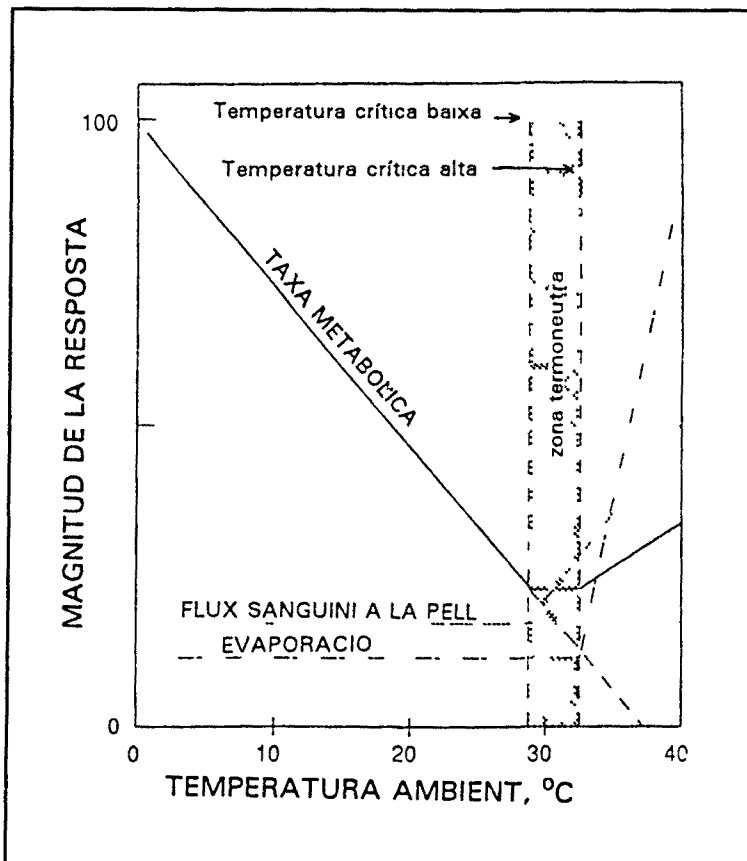
Una visió general de la fisiologia comparada ens mostra que la major part d'espècies animals regulen la seva temperatura corporal, són endotèrmiques, i que el marge de temperatures corporals tolerades és més estret segons avancem en l'escala filogenètica. Cal preguntar-nos per què es regula la temperatura corporal i per què les espècies filogenèticament més recents no són capaces de tolerar variacions de la temperatura corporal (Cabanac i Brinnet, 1987). Sembla que els marges de temperatura corporal estan determinats per tres influències selectives:

—Un ambient físic constant és avantatjós per les cèl·lules, ja que influeix en els processos físico-químics i enzimàtics i és convenient eliminar aquest factor de variació per aconseguir una regulació fina, precisa i ajustada. Podem expressar el canvi induït per la temperatura en la taxa metabòlica com el factor  $Q_{10}$ , que és el canvi produït per un augment de  $10^{\circ}\text{C}$  en la temperatura. El valor de  $Q_{10}$  és d'aproximadament 2 per la majoria d'animals (Schmidt-Nielsen, 1975), és a dir, la taxa metabòlica es duplicaria cada  $10^{\circ}\text{C}$  d'augment de la temperatura

(Stock i Rothwell, 1982).

—Per permetre les pèrdues de calor a l'exterior la temperatura corporal ha de ser més alta que la temperatura ambient i com més alta sigui la temperatura corporal més ampli el marge de temperatures tolerat.

—El sistema nerviós central ha desenvolupat una estreta dependència de la temperatura, de manera que en els humans, per exemple, les temperatures corporals inferiors a 35° C i superiors a 40,5° C es produeixen lesions o mal funcionament del SNC. Podem definir una zona anomenada **zona termo-neutra** en la qual la taxa metabòlica es manté constant, la qual està limitada per la **temperatura crítica alta**, per sobre de la qual es produeixen respostes que afavoreixin les pèrdues de calor i la **temperatura crítica baixa**, per sota de la qual es desencadenen mecanismes de producció de calor i d'estalvi de les pèrdues (Gordon, 1989) (Figura 1)



**Figura 1:** Relació típica entre la temperatura ambient i la magnitud dels principals efectors termo-reguladors: la taxa metabòlica, el flux sanguini a la pell i les pèrdues per evaporació d'aigua d'un mamífer típic. Notis l'estret marge de la zona termo-neutra, limitada per les temperatures crítiques, alta i baixa (per més informació vegeu el text)

El resultat és doncs que una temperatura corporal alta té alguns avantatges però els teixits dels homeoterms esdevenen dependents d'aquesta temperatura uniforme i han desenvolupat tot el seu sistema de regulació metabòlica al voltant d'aquest estret marge de temperatures. Per aquesta raó han desenvolupat una forta capacitat de control regulador de la seva temperatura. Aquests mecanismes de regulació de la temperatura són (Cabanac i Brinnel, 1987):

—de *comportament*: quan l'animal guia voluntàriament el seu comportament per fer front a



la situació adversa. Les principals respostes són la postura, el desplaçament i la generació de microclimes, incrementant/disminuint les pèrdues per conducció, radiació o convecció.

—autònom:

—vasodilatació/vasoconstricció cutània i de les extremitats

—tremolor (termogènesi tremolosa)

—termogènesi no tremolosa:

—basal

—reguladora

La vasodilatació perifèrica fa que al circular més sang en les zones més superficials del cos, aquesta pugui dissipar més calor cap a l'ambient. A la rata les propietats físiques de la cua fan que sigui un òrgan crucial en les pèrdues de calor corporal: 1) no està recoberta de pèl que pugui atenuar la pèrdua de calor, 2) està altament vascularitzada, permetent un alt flux sanguini i 3) té una relativament alta relació superfície/volum, que ajuda més a l'intercanvi calòric (Gordon, 1990). Pel contrari, la vasoconstricció perifèrica ajuda al manteniment de la temperatura corporal a baixes temperatures.

Però en el context d'aquest treball ens centrarem en les dues formes de termogènesi induïda pel fred: termogènesi tremolosa i no tremolosa.

#### *i) Termogènesi tremolosa*

Normalment en l'exposició aguda al fred o en l'exposició al fred molt intens, la resposta s'inicia amb la termogènesi tremolosa. Aquesta consisteix en un augment de l'activitat muscular, de manera que actuen de forma consecutiva en un curt espai de temps músculs antagonics (abductors i adductors), amb el resultat d'un nul treball energètic però amb un fort consum de substrats i alliberament de calor residual que compensa l'efecte del fred (Hill i Hatree, 1920). Aquest procés però, té una duració limitada en ser substituïda gradualment per la termogènesi no tremolosa, ja que la tremolor interfereix amb la locomoció i coordinació —és similar a la tetània— i pot dificultar la son. Malgrat que la tremolor pot augmentar fortament la producció de calor, no és un sistema massa eficient perquè també augmenta el flux sanguini perifèric i el moviment de les extremitats, incrementant-se així les pèrdues de calor. Com a conseqüència d'això, probablement menys d'un 20 % de la calor produïda és retinguda per compensar el dèficit tèrmic. La davallada en la tremolor durant l'adaptació al fred es deu probablement a l'escalfament dels termo-receptors espinals que estimulen la tremolor, disminuint així el marge de temperatura requerit per la seva activació (Stock i Rothwell, 1982).

#### *ii) Termogènesi no tremolosa*

La termogènesi no tremolosa no solament substitueix la tremolor durant l'exposició crònica al fred, sinó que en els nadons d'algunes espècies, inclòs l'home, constitueix l'única font extra de calor per fer front a l'exposició al fred (Smith i Horwitz, 1969). La capacitat per tremolar pot desenvolupar-se cert temps després del naixement, així en l'home, la tremolor no està totalment establerta fins aproximadament l'any de vida. Aquest fet, juntament amb les variacions de la relació superfície/volum,

expliquen per què la capacitat per la termogènesi no tremolosa és alta en individus joves i declina progressivament amb l'edat (Stock i Rothwell, 1982). Una altra situació en la que té especial transcendència aquest tipus de termogènesi la constitueix la hibernació (Janský, 1973).

Alguns autors diferencien dues components dins de la termogènesi no tremolosa: una basal i una altra termo-reguladora o adaptativa (Janský, 1973). La primera és la calor produïda per tots aquells processos que constitueixen la taxa metabòlica basal, ja que aquests processos també col·laboren en el manteniment de la temperatura corporal sota condicions basals. En canvi, la component de la termogènesi no tremolosa reguladora és la produïda com a resposta a una necessitat específica de termo-regulació davant l'exposició al fred.

Però s'ha observat que la termogènesi no solament augmenta d'acord amb la variació de la temperatura ambient (Langsberg i Young, 1983), sinó també en relació a la grandària corporal, donat que com més petit és l'animal més gran és el cost de la seva termo-regulació a una determinada temperatura (Hemmingsen, 1960). Així, la termogènesi no tremolosa reguladora constitueix un procés adaptatiu en dos sentits, ja que per una banda canvia la resposta segons alteracions puntuals de la temperatura ambient, i pot augmentar en la mateixa proporció que la termogènesi total durant exposicions cròniques a ambients freds (Sellers et al., 1954), fins i tot durant períodes molt llargs (18 mesos), en els que hauria pogut donar lloc a un procés de desenvolupament d'una capa aïllant que protegeixi més efectivament (Banet, 1987).

L'origen de la termogènesi no tremolosa es va estudiar en primer lloc en animals aclimatats al fred, i es va atribuir inicialment a l'increment de producció de calor que es dona quan la ingesta voluntària augmenta en l'exposició continuada al fred. Però de totes maneres aquest augment no podia justificar plenament l'increment induït pel fred. Posteriorment, es va posar més èmfasi en què el múscul esquelètic podia produir-la simultàniament a la termogènesi tremolosa (Hart i Janský, 1963). Però Cottle i Carlson (1956) van mostrar que en les rates aclimatades al fred es dona un augment en la producció de calor fins i tot quan s'ha administrat curare als animals per anul·lar la contracció muscular. Més tard es va veure que el sistema nerviós simpàtic estava implicat directament en aquest procés, doncs els animals aclimatats al fred mostraven una resposta termogènica a l'administració de noradrenalina més elevada que els animals mantinguts a temperatura ambient (Wallis, 1979).

Malgrat això, el problema de la localització de l'òrgan responsable de la termogènesi no tremolosa va romandre sense resposta molt de temps, ja que a part del múscul esquelètic s'havien descartat el fetge i altres vísceres (Depocas, 1960). El teixit adipós marró també va ser rebutjat com a principal responsable, doncs malgrat haver-se descrit que tenia una missió específica en la producció de calor (Smith i Hock, 1963), la seva escassa massa (al voltant del 1 % del pes corporal) i les primeres estimes de la seva irrigació sanguínia, van suggerir que no podia contribuir en més d'un 6 % a la termogènesi no tremolosa (Himms-Hagen, 1972). La demostració que la termogènesi produïda pel teixit adipós marró era molt més important del que es pensava, va ser aparent en comprovar que el mètode utilitzat per a estudiar la irrigació sanguínia en altres teixits no era aplicable al teixit adipós marró (Alexander i Bell, 1975). Realitzant els càlculs de mesura del flux sanguini amb microesferes radioactives es va demostrar que el teixit adipós marró era potser el principal responsable de l'increment de la taxa metabòlica induïda per la infusió de noradrenalina i per l'exposició al fred en rates (Foster i Frydman, 1978). Es va comprovar que les rates tractades crònicament amb

noradrenalina tenien més resistència al fred en experimentar una elevació de la capacitat de produir termogènesi no tremolosa (LeBlanc i Pouliot, 1964) i que això es relacionava amb l'increment de la massa del teixit adipós marró en aquests animals (Foster i Frydman, 1979). L'exposició al fred, a més d'induir un augment de massa del teixit —de varies vegades el pes inicial després de varies setmanes d'exposició— així com del flux sanguini (Foster i Frydman, 1979), també produeix canvis a nivell mitocondrial, amb un increment en l'àrea de la membrana mitocondrial interna, augmentant-se el contingut en citocrom c i en una proteïna de pes molecular de 32 kD associada a la via de producció de calor d'aquest teixit; a més la composició en àcids grassos dels fosfolípids està alterada (Rickier, 1979).

Abans que el teixit adipós marró fos reconegut com a principal efector de la termogènesi no tremolosa ja hi havia indicis de que aquest estava densament innervat i que aquesta innervació jugava un paper important en la seva activitat (Sidman i Fawcett, 1954). Altres autors determinaren l'origen simpàtic d'aquests nervis per la presència intra-tissular de catecolamines i la desaparició d'aquestes després de la denervació del teixit (Weiner et al., 1962), determinant-se que el contingut de noradrenalina del teixit era 30 o 40 vegades més alt que a altres teixits (Stock i Westerman, 1963).

Per altra banda, els vasos sanguinis que irriguen el TAM també estan innervats (Bargmann et al., 1968), de manera que l'acció de la noradrenalina augmenta el flux cap al teixit (Kuroshima et al., 1967), però la vasodilatació podria provenir d'una via indirecta secundària als esdeveniments metabòlics del teixit (Foster i Depocas, 1980). Al considerar el paper d'aquesta innervació vascular cal tenir en compte que aquest teixit presenta un sistema venós dual (Smith i Roberts, 1964), en el que hi ha un subministrament arterial bilateral en estreta relació amb venes, formant el que aquests autors van anomenar "sistema bescanviador de calor contracorrent de tipus revers". De manera que la temperatura en els vasos aparellats tendeix a ser més alta en la sang venosa que en l'arterial, i així la calor circula des de la sang venosa cap a l'arterial, contribuint a l'escalfament del teixit i per tant a l'augment del metabolisme, constituint un sistema de retro-alimentació positiva. Però això podria comportar un augment crític de la temperatura del teixit, que s'evita mitjançant el segon sistema venós, representat principalment per la vena Sulzer, que s'emporta part de la calor emmagatzemada al teixit. Aquesta fina seqüència de control termogènic requereix un control vascular fi, en el que la innervació vascular pot jugar un paper integrador important (Girardier, 1983).

Posteriorment a l'estudi de la termogènesi no tremolosa dels animals aclimatats al fred, es va estudiar un altre model experimental, el dels ratolins obesos (ob/ob i db/db). La idea va sorgir de l'observació que els ratolins obesos ob/ob morien d'hipotèrmia molt més ràpidament que els controls no obesos de la mateixa soca en ser exposats a 3–4° C (Davis i Mayer, 1954). Aquesta anormalitat dels ratolins obesos es va relacionar amb la relativa incapacitat de mantenir una taxa de producció de calor normal sota condicions de fred, i s'ha relacionat posteriorment amb una reducció específica de la termogènesi no tremolosa (Trayhurn i James, 1978).

### *c) Termogènesi induïda per la dieta*

Aquest tipus de termogènesi fa referència a l'augment de producció de calor específicament relacionada amb la ingestió d'aliments. Però hom la considera formada per dues components (Rothwell i Stock, 1981):

## i) Obligatòria

Inclou els costos de digestió, absorció, processat i/o emmagatzemament de substrats. Així per exemple, estaria inclòs el cost d'emmagatzemar glúcids de la dieta, entrats com a glucosa, en forma de glicogen o triacil-glicerols.

## ii) Adaptativa o reguladora

En un experiment ja clàssic, Miller i Payne (1962) van concloure que una ingesta elevada era compensada parcial o totalment per un augment de les pèrdues de calor: aquest és el concepte de termogènesi adaptativa induïda per la dieta, és a dir, només es dona com a resposta a una ingesta que superi les necessitats momentànies de l'organisme. En concret, l'experiment va consistir en alimentar dos porcs deslletats, un amb la dieta normal però restringint la quantitat; l'altre porc tenia lliure accés a una dieta pobre en proteïna. Així el creixement es restringia per manca d'energia en el primer cas i per la disponibilitat de proteïna en el segon. Malgrat que ambdós porcs van mantenir el pes, l'alimentat amb la dieta pobre en proteïna va ingerir cinc vegades més energia que l'altre. Aquests autors van calcular que si no hi hagués hagut un augment en la despesa energètica l'animal que va ingerir més energia hauria dipositat uns 4 kg de més. Malgrat que aquest experiment no va ser realitzat en condicions fisiològiques, va servir per demostrar els remarcables efectes que la termogènesi induïda per la dieta pot tenir sobre el balanç energètic.

Aquest no era un concepte nou, doncs a començaments de segle Voit i Neumann havien suggerit que una forma de producció de calor, que ells van anomenar *luxuskonsumtion*, permetia al cos eliminar l'energia ingerida que ultrapassava els seus requeriments. El mateix Neumann (1902) i més tard Gulik (1922) van observar en ells mateixos que podien mantenir el seu pes malgrat importants diferències a llarg termini en la ingesta energètica. Però no va ser fins la dècada dels seixanta, quan es van realitzar estudis de sobrealimentació controlada, que aquesta idea va començar a rebre més atenció.

Més tard, aquest efecte de la dieta sobre la producció de calor va quedar encara més clar amb la introducció de les dietes de cafeteria (descrites en l'apartat 2.4.3.c) (Sciafani i Springer, 1976), aquestes dietes permeten trencar el control de la ingesta en la rata fent que ingereixi una gran quantitat d'energia, la qual és majoritàriament perduda en forma de calor, dipositant-se al cos sols una petita proporció.

Els orígens metabòlics d'aquesta TID no estan completament aclarits, si bé uns primers estudis van indicar que la TID podria ser la conseqüència de processos similars als implicats en la termogènesi no tremolosa (Stirling i Stock, 1968), no és fins 1979 que Rothwell i Stock van fer òbvies algunes de les similituds entre ambdós fenòmens, que van ser completades pels estudis d'altres autors:

—Les rates sobre-alimentades amb dietes de cafeteria presenten, de manera similar a les adaptades al fred, una resposta termogènica intensa a l'administració de noradrenalina; aquests alts nivells de consum d'oxigen poden ser completament abolits per l'administració d'un bloquejant  $\beta$ -adrenèrgic com el propanolol (Rothwell i Stock, 1979).

—Els animals sotmesos a una dieta de cafeteria mantenen una temperatura interna alta quan es sotmeten al fred, sense tremolar per mantenir la seva generació de calor com fan els animals control (Rothwell i Stock, 1980; Closa et al., 1992).

—El teixit adipós marró també experimenta un augment de la seva massa en rates sotmeses a dieta de cafeteria, augment degut no solament a una deposició de triacil-glicerols més gran, sinó també a un increment del seu contingut proteic (Foster i Frydman, 1978).

Els nivells de TID depenen de molts factors i segons el model experimental emprat una TID marcada no és sempre evident, però l'edat i el rerafons genètic semblen ser molt importants. Així es poden trobar diferències en la resposta a la hiperfàgia dins una mateixa soca, en animals derivats de colònies diferents (Rothwell i Stock, 1980). La composició de la dieta, el grau i la duració de la hiperfàgia, s'han suggerit com a factors que afecten la TID (Garrow, 1978).

El possible paper de la TID en l'obesitat és evident i així s'ha descrit en nombrosos rossegadors que presenten obesitat genètica. L'estudi en humans és encara més complex i a les diferències en la quantitat de les dietes subministrades, tipus i duració de les mesures, etc, cal sumar-hi la heterogeneïtat dels diferents tipus d'obesitat en humans, factors que fan que encara més en humans l'efecte d'una TID defectuosa sigui controvertida (Segal et al., 1990).

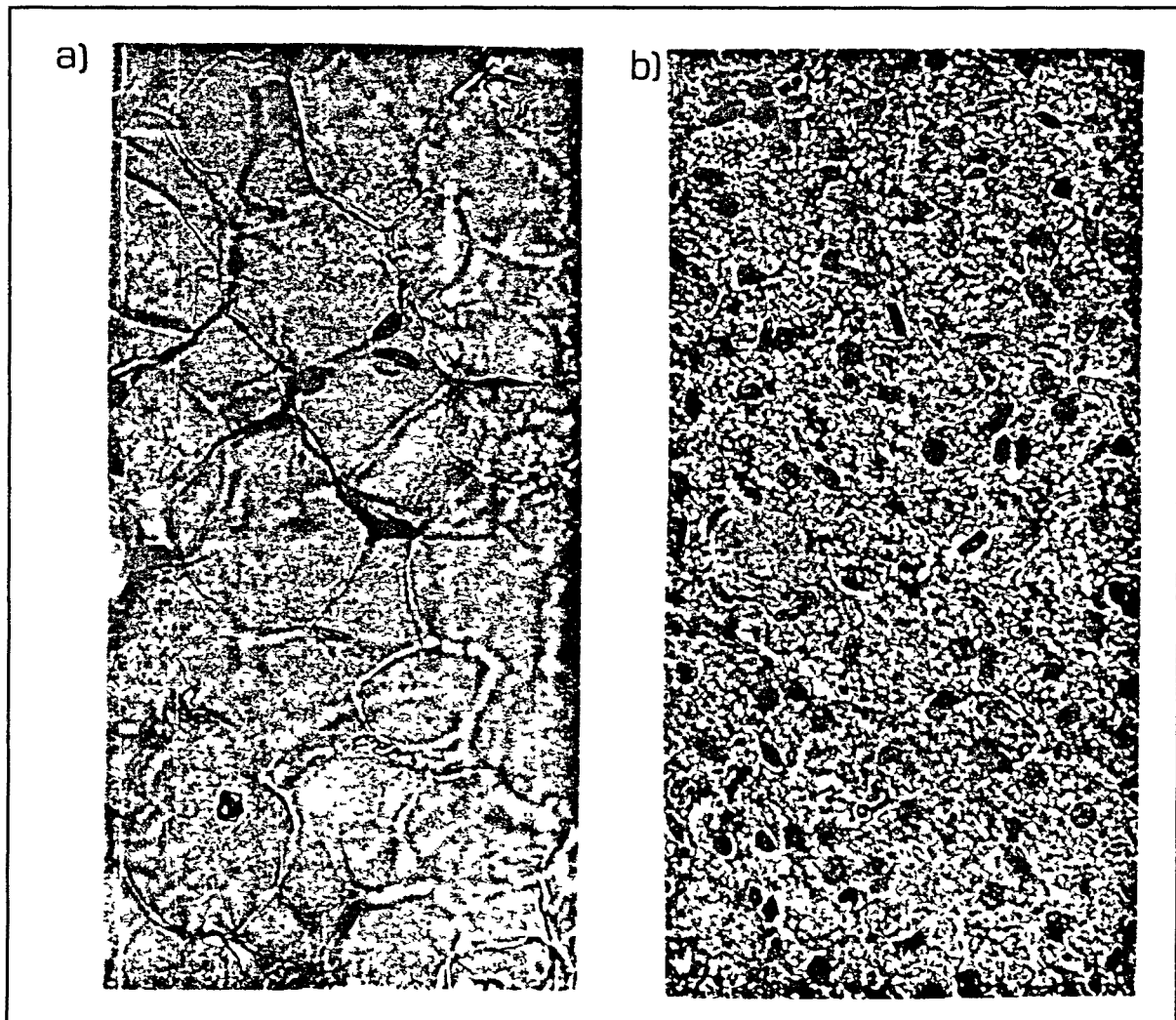
### *1.5.2 Mecanismes bioquímics de la termogènesi adaptativa*

Tal i com s'ha apuntat anteriorment hi ha evidències que el teixit adipós marró podria ser el principal òrgan productor de calor en la termogènesi adaptativa. Però també s'han descrit altres possibles mecanismes o localitzacions que poden contribuir en proporció variable a aquesta despesa de calor.

#### *a) El teixit adipós marró (TAM)*

Aquest teixit, com el seu nom indica, és un tipus de teixit adipós caracteritzat pel seu color i per la seva aparença multilocular que el diferencia del teixit adipós blanc, caracteritzat per una única i gran vacuola lipídica que ocupa gran part de l'espai intracel·lular. No tots els animals presenten aquest teixit, s'ha trobat en rossegadors, carnívors, primats, etc, però no en ocells, mamífers aquàtics o marsupials (Rothwell i Stock, 1985). Es troba sobre tot en petits mamífers hivernants (com el ratpenat, hámster, marmota, etc) i en els neonats de moltes espècies que inclouen grans mamífers, com l'ovella, l'home, etc.

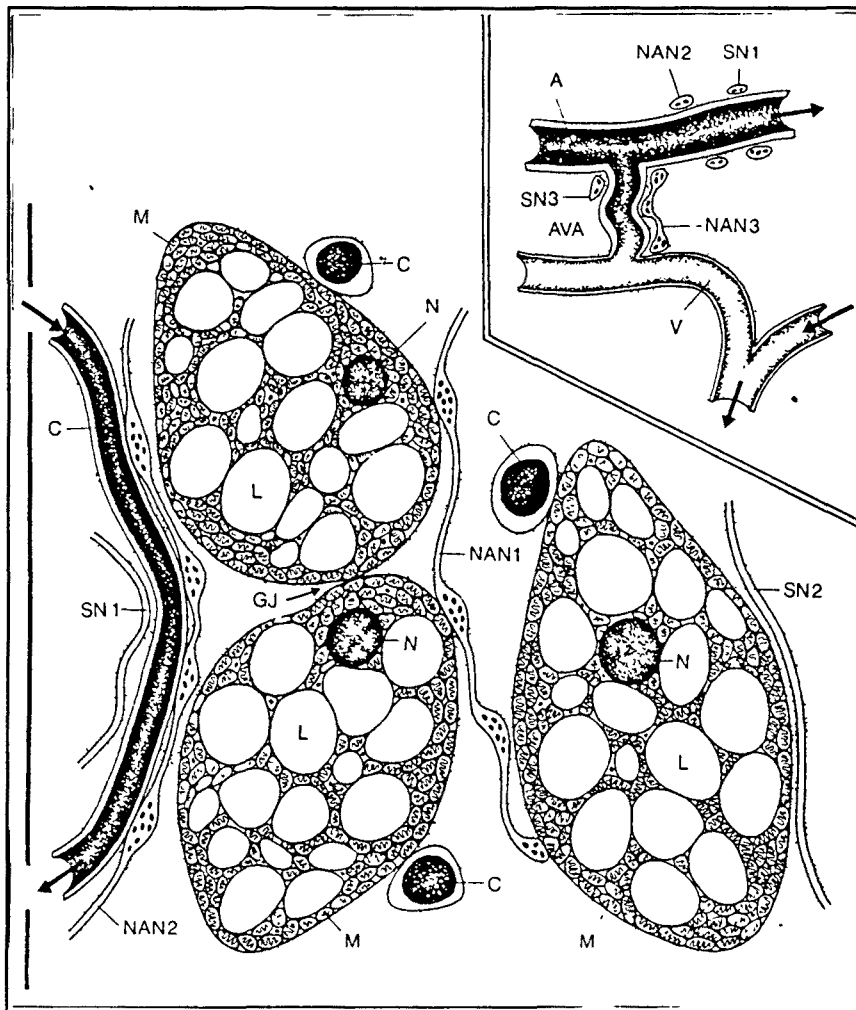
La seva localització anatòmica varia segons l'espècie, però en la rata, on està més ben estudiat, el principal dipòsit és l'inter-escapular, el cervical, i el de la regió subaxilar; però també existeixen dipòsits més profunds i difosos al voltant dels ronyons, regió inguinal i als voltants del cor i de l'aorta. Aquestes últimes localitzacions poden tenir un significat funcional relacionat amb la preservació de la temperatura dels òrgans vitals, o amb el rescalfament d'aquests durant el despertar de la hibernació (Janský, 1973).



**Figura 2:** Imatges comparatives de microscòpia òptica de teixit adipós a) teixit adipós blanc i b) teixit adipós marró (Noteu el desplaçament lateral del nucli en a) deguda a la presència d'una gran vacuola lipídica que ocupa gran part de l'espai intracel·lular)

El TAM inter-escapular és el dipòsit més gran, més fàcil d'identificar i d'extreure, i en la rata representa del 25-30 % del total de TAM. Les estimacions de la massa total de TAM en el cos són però, difícils, donada la dificultat de separar les masses més petites i disperses d'aquest teixit. Normalment es considera que el TAM representa un 1-2 % del pes corporal en rosegadors.

El seu característic color marró s'ha relacionat amb el seu gran contingut en grups hem, degut a l'elevada presència de mitocondries que contenen citocroms i, també a que està molt ben vascularitzat, raó per la qual pot contenir quantitats importants d'hemoglobina de la sang (Rothwell i Stock, 1982). El nucli cel·lular no està desplaçat lateralment per una única vacuola lipídica, com és al cas del teixit adipós blanc (veure imatge comparativa en la Figura 2), sinó que conté varies gotes lipídiques petites disperses pel citoplasma. Com s'ha indicat anteriorment nombrosos experiments *in vivo* suggereixen que el TAM està directament relacionat amb la generació de calor facultativa que representen tant la TID com la TNT (Himms-Hagen i Desautels, 1978).

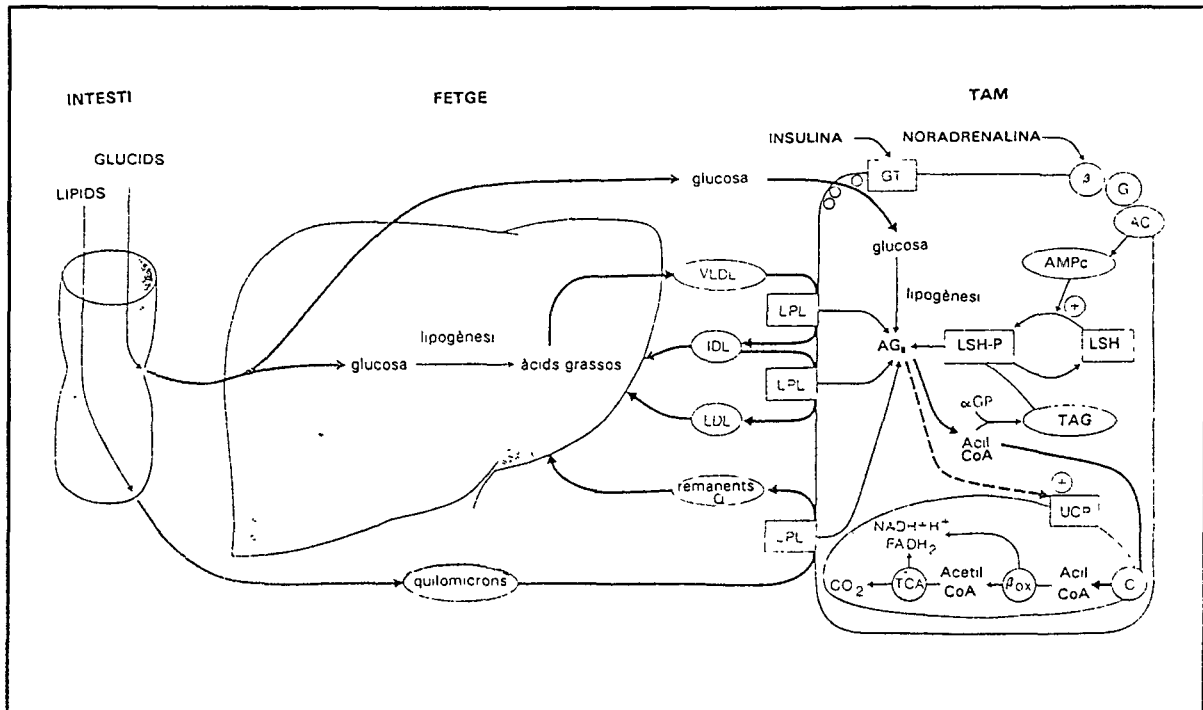


**Figura 3:** Diagrama representatiu de les cèl·lules del TAM amb la seva vasculatura i innervació. Es mostren tres cèl·lules multiloculars de TAM, amb el seu nucli (N), algunes gotes lipídiques (L), mitocondris estretament empaquetats (M), i gap-juncions (G). Els nervis simpàtics noradrenèrgics es mostren propers a les cèl·lules (NAN1) i als vasos sanguinis (NAN2), així com nervis sensors (SN1 i 2). Els capil·lars (C) s'il·lustren en secció longitudinal, per tal d'enfatitzar la seva abundància entre les cèl·lules parenquimals. A la part superior dreta s'inclou, a escala més gran, una artèria (A) i una vena (V) amb una anastomosi arterio-venosa (AVA) i els seus nervis simpàtics (NAN3) i sensors (SN3).

Alguns experiments *in vitro* també han demostrat que el TAM de rates sobre-alimentades és més sensible a l'estimulació de la lipòlisi per la noradrenalina que el de rates control (Rothwell i Stock, 1979). Posteriorment, es van realitzar mesures del flux regional en ratolins obesos (ob/ob) i prims abans i després de l'administració de noradrenalina. El flux cap al TAM en els ratolins prims augmentava unes 40 vegades després de l'administració de noradrenalina, mentre que l'augment de flux al TAM dels ratolins obesos només era prop de la meitat del dels prims, aquests autors van deduir que la baixa activitat metabòlica al TAM dels ratolins obesos explicava la seva baixa resposta a la noradrenalina (Thurby i Trayhurn, 1980). Però en canvi es descriu l'existència de TID en el porc, que presumiblement no presenta TAM (Gurr et al., 1980).

La innervació simpàtica del TAM és molt rica i explica el seu alt contingut en noradrenalina. El nombre de receptors  $\beta$ -adrenèrgics en la membrana cel·lular d'aquests adipòcits és unes deu vegades més gran que la d'altres cèl·lules de l'organisme. Les cèl·lules presenten moltes gap-juncions, implicades en la propagació intercel·lular dels canvis elèctrics promoguts per la unió de la noradrenalina als receptors  $\beta$ -adrenèrgics (Himms-Hagen, 1992). Com pot observar-se a la Figura 3, a més de l'abundant vasculatura, aquesta presenta anastomosis arterio-venoses, les quals es constreenyen quan el TAM és estimulat, enviant més sang cap els capil·lars del parènquima adipós marró (Nnodin i Lever, 1988).

Quant al seu metabolisme, es pot resumir sobre-simplificadament amb la frase que diu: "tot allò que pot fer el teixit adipós blanc, el TAM ho pot fer millor" (Rothwell i Stock, 1982). Així per exemple, la seva capacitat oxidativa és varies vegades superior a la del teixit adipós blanc, degut sobre tot a la presència de la via que fa possible l'eliminació d'energia en forma de calor. El principal substrat termogènic del TAM són els àcids grassos, que provenen de diferents fonts segons l'estat nutricional de l'animal; l'origen d'aquestes fonts està representat a la Figura 4.

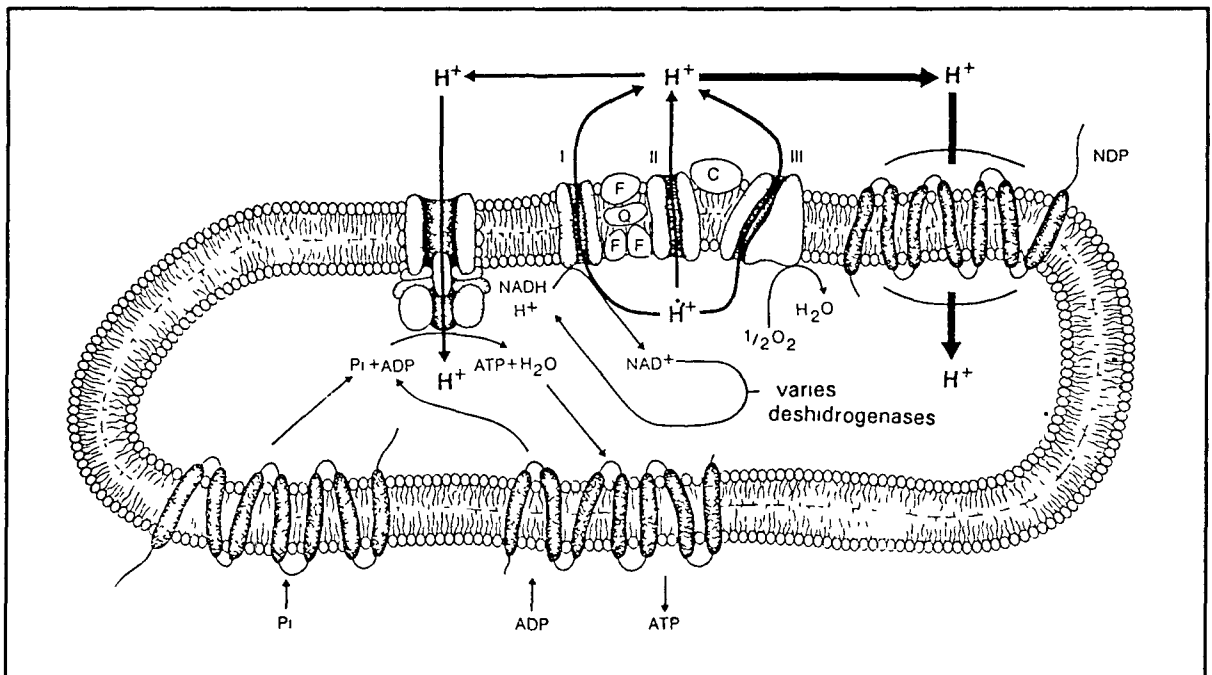


**Figura 4:** Fonts de lípids per a la termogènesi al TAM. Els àcids grassos utilitzats al TAM són en primer lloc els dels magatzems endògens de triacil-glicerols (TAG) del propi TAM, quilomicrons de la dieta, lipoproteïnes de molt baixa densitat (VLDL) formades en el fetge, o de la lipogènesi endògena a partir de glucosa. El control el realitza la noradrenalina a l'unir-se als receptors  $\beta$ -adrenèrgics ( $\beta$ , i via una proteïna G reguladora (G) i l'adenilat ciclasa (AC), augmentant els nivells d'AMP cíclic. L'AMPc estimula a proteïna quinases que fosforil·len la lipasa sensible a les hormones (HSL), augmentant la taxa d'hidròlisi de TAG endògens. El control a més llarg termini correspon a la síntesi de lipoproteïna lipasa (LPL), que hidrolitza els TAG de les VLDL i quilomicrons. Els àcids grassos alliberats són transportats cap a l'interior de la cèl·lula, i les lipoproteïnes de densitat intermèdia (IDL) i els remanents de quilomicrons (remanents Q) retornen al fetge. (Hidròlisi posteriors de TAG de les IDL poden donar lloc a lipoproteïnes de baixa densitat (LDL), les quals també retornen al fetge). L'entrada de glucosa es produeix a través de transportadors (GT), la localització dels quals està controlada per la insulina. Els àcids grassos lliures (FFA) estimulen la funció de translocació de protons de la termogenina (UCP) i serveixen de combustible a la mitocòndria per les deshidrogenases de la  $\beta$ -oxidació ( $\beta$ -OX) i el cicle dels àcids tricarboxílics (TCA), que aporten el NADH i  $FADH_2$  pel sistema de transport d'electrons cap a l'exterior de la mitocòndria.

Aquesta via va ser proposada per Nicholls (1976) i consisteix en que les mitocòndries del TAM tenen una via única de conductància als protons que pot dissipar el gradient de protons generat per la respiració, implicant així la formació d'ATP mitjançant la fosforilació oxidativa (Nicholls, 1979). Aquesta via està mitjançada per una proteïna situada a la membrana mitocondrial interna d'un pes molecular de 32 kD (Nicholls, 1984), anomenada termogenina o UCP (uncoupling protein), proteïna que té una considerable similitud estructural amb el sistema de bescanvi ATP/ADP de la membrana



mitocondrial (Aquila et al., 1984) i amb la proteïna transportadora de fosfat (Runswick et al., 1987), tal com pot observar-se a la Figura 5. La seva funcionalitat com a generadora de porcs que permeten el pas franc de protons és inhibida pel lligam de nucleòtids de purina (GDP i ADP), de manera que la conductància als protons és proporcional al nombre de llocs d'unió al GDP (Desautels et al., 1978), si bé el nivell d'unió no està directament relacionat amb la concentració de UCP a la membrana mitocondrial, sinó a l'estat funcional de la proteïna, per raons encara no totalment esbrinades (Swick, 1988). Per tant l'activitat de la via pot ser estimada en assajos de lligam al GDP o també anomenat GDP-binding. La termogenina s'uneix de manera reversible als àcids grassos o altres compostos amb restes acil (Bukowiecki et al., 1981), els quals indueixen un canvi de conformació que deixa un espai lliure entre les cadenes de termogenina —un por— pel qual poden passar els protons a favor del seu gradient electroquímic, perdent-se així l'energia quimiosmòtica necessària per la síntesi d'ATP, en forma de calor (Nedergaard i Cannon, 1984).



**Figura 5:** Components de la mitocòndria del TAM que són importants pel control de la termogènesi. Els components de la membrana mitocondrial interna són —començant per la zona superior dreta i continuant en sentit horari— la proteïna translocadora de protons UCP amb set dominis transmembrana i el lloc d'unió del nucleòsid difosfat (NDP) en la superfície exterior (Aquila et al., 1985). A continuació es mostra la translocasa de nucleòtids d'adenina, de marcada homologia amb la UCP; el transportador de fosfat, mostrant també la homologia amb la UCP; l'ATP sintetasa; i, en el centre, la cadena transportadora d'electrons. L'operativitat de la cadena de transport d'electrons està limitada perquè ha de bombear protons contra el gradient de protons que ell crea. Aquest gradient de protons és dissipat o bé cap a l'esquerra de l'esquema, per l'ATP sintetasa, a cap a la dreta, per la UCP. La funcionalitat de l'ATP sintetasa depèn de la seva disponibilitat d'ADP (aportat per la translocasa de nucleòtids d'adenina) i fosfat (aportat per la proteïna transportadora de fosfat) i està, per tant, determinada, per la taxa d'utilització d'ATP al citoplasma. La UCP només és funcional quan és activada per la unió dels àcids grassos o per l'alliberament dels nucleòtids de purina als que està unida. El canvi de l'estat acoblat al desacoblat desvia l'entrada de protons per l'ATP sintetasa cap a la UCP.

S'ha observat una marcada inhibició de la respiració mitocondrial de rates adaptades al fred (Rickier et al., 1979) i de rates alimentades amb dieta de cafeteria (Brooks et al., 1980) per la unió

específica del GDP. De les anàlisi de Scatchard es dedueix que es deu a un augment en el nombre de llocs d'unió en les rates sotmeses a dieta de cafeteria, sense canvis d'afinitat (Brooks et al., 1982), però a diferència de les rates sotmeses al fred no s'ha trobat un augment paral·lel en la concentració de termogenina (Himms-Hagen et al., 1981).

Sembla que la seqüència d'esdeveniments que es produeixen en la via de conductància als protons és la que s'indica a la Figura 4. La termogènesi s'inicia per l'alliberament de noradrenalina, la qual s'uneix als receptors  $\beta_1$  de la membrana plasmàtica dels adipòcits marrons. L'adenilat ciclase és aleshores activada, generant AMP cíclic, el qual activa la lipasa responsable de la hidròlisi dels triacil-glicerols a glicerol i àcids grassos. Els àcids grassos activen la termogenina, augmentant la permeabilitat de la membrana mitocondrial als protons (Bukowiecki et al., 1981). Aquests àcids grassos són en gran part oxidats en la mitocòndria, i els protons generats passen a través de la membrana mitocondrial interna de la mateixa manera que en altres teixits. Però els protons, enlloc de retornar per la via habitual —ATP sintetasa— passen a través de la termogenina, sense síntesi d'ATP i amb la conseqüent producció de calor.

La presència i funcionalitat del TAM en l'home és encara motiu de controvèrsia, doncs si bé ambdues estan clares en els nadons no passa el mateix en l'adult. Amb l'edat les cèl·lules del TAM van acumulant lípids de manera que es fan indistingibles del teixit adipós blanc, i a més es tracta d'un teixit de distribució difosa entre el teixit adipós blanc (Lean, 1992). Per altra banda, en general es pot dir que la quantitat de lípids al TAM està inversament relacionada amb la seva activitat termogènica. Aquest concepte va ser utilitzat per alguns autors (Mrosovsky i Rowlatt, 1968) com a evidència indirecta de la termogènesi al TAM en nounats. D'aquestes consideracions s'en deriva que a l'home hi ha una considerable massa de TAM en els adults, o almenys de teixit adipós derivat del TAM de l'infant, però que la seva aparença histològica suggereix una activitat termogènica més aviat baixa (Lean, 1992).

#### b) *ATPasa Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>*

L'ATPasa Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> és un enzim associat a membrana implicat en el transport actiu de sodi. Així s'ha proposat que aquest enzim pot contribuir a una fracció important de la producció de calor induïda per les hormones tiroidees (Smith i Edelman, 1979).

Fins i tot s'ha hipotetitzat que aquest enzim podria contribuir significativament a la termogènesi induïda pel fred al TAM (Horwitz, 1973), així també s'ha descrit una alta activitat d'aquest enzim en rates alimentades amb dieta de cafeteria (Rothwell et al., 1981), però la importància quantitativa d'aquesta via en al termogènesi del TAM s'ha qüestionat (Nicholls, 1979).

On aquesta via podria tenir més importància és en el múscul esquelètic, ja que s'ha descrit que la concentració d'aquest enzim en múscul de ratolí obès (ob/ob) és més baixa que en els seus controls primis (Lin et al., 1979) (fet també demostrat per la inhibició amb uabaïna) i que aquest sistema està alterat a una edat molt primerenca. També s'han descrit concentracions de l'ordre de la meitat del normal en el fetge d'aquests animals, però en ambdós casos sembla tractar-se d'una característica que apareix paral·lelament a l'obesitat, més que no pas precedir-la.

Per altra banda l'exposició al fred provoca augments en la concentració d'ATPasa  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  en múscul esquelètic, fetge i ronyó, tant en el ratolí obès (ob/ob) com en el seu control prim (Lin et al., 1980), dades que tampoc contribueixen a l'aclariment de la importància quantitativa d'aquesta via.

### c) Cicles entre substrats

Algunes vies del metabolisme intermediari són reversibles, però en alguns casos es requereixen enzims diferents per les reaccions en sentit invers; per això és possible que es produeixi un reciclatge de metabòlits en aquests punts. A més, molts d'aquests cicles utilitzen ATP, fet pel qual es poden considerar termogènics, i com més ràpid funcionin, més generació de calor poden produir. Aquests cicles, anomenats "fútils", contribueixen de manera important al control del metabolisme, i si bé aïlladament la seva contribució a la termogènesi global és limitada, quan es consideren en conjunt dins d'una via metabòlica, la seva contribució podria ser significativa (Stock i Rothwell, 1982).

Així la contribució feta pel recanvi de proteïnes al metabolisme total i el seu paper en la termogènesi no està molt ben definit. Hi ha suggerències però, de que el recanvi està augmentat en l'exposició al fred, i reduït en l'obesitat (Garrow, 1978); mentre que d'altres autors (Miller et al., 1979) han demostrat que la relació lineal entre el recanvi proteic i la ingesta energètica observada en el ratolí prim és absent en el ratolí ob/ob. Però aquesta manca de resposta del recanvi a variacions en la ingesta energètica provoca una situació paradoxal en la que a nivells baixos d'ingesta energètica el ratolí obès presenta una taxa de recanvi més alta que els prims. Una altra dificultat per acceptar el recanvi proteic com un factor important en la termogènesi adaptativa és el fet que es donen alts nivells de TID en situacions en les que el recanvi és baix, com per exemple durant el consum de dietes baixes en proteïna (Miller i Mumford, 1967).

Un altre dada que ha fet considerar al múscul com un lloc potencialment termogènec, són les altes taxes de proteolisi que acompanyen la febre o l'administració d'endotoxines (Jepson et al., 1986), aquestes respostes agudes a la infecció o a la inflamació estan mitjançades pel pirogen endogen alliberat pels macròfags interleucina- $1\beta$  (Dinarello, 1984), però estudis amb aquesta interleucina han demostrat que els seus efectes pirogènics estan mitjançats per l'activació del sistema nerviós simpàtic actuant sobre la termogènesi al TAM (Dascombe et al., 1989).

El mateix principi es podria aplicar al trencament de lípids per la lipòlisi, seguida per la re-esterificació de nou dels àcids grassos resultants, procés que requereix la despesa d'energia i que també pot contribuir a la termogènesi (Stock i Rothwell, 1982).

Amb l'excepció de la via de conductància als protons, els altres mecanismes bioquímics descrits que poden estar implicats en la producció de calor, poden tenir lloc en altres teixits diferents del TAM, i per tant, no es pot excloure un paper potencial pel múscul, el fetge o el teixit adipós blanc en la termogènesi. Això pot tenir una importància especial en espècies en les que no existeix un TAM diferenciat, com sembla ser el cas del porc, o que el tenen en petita proporció, com podria ser el cas de l'home (Stock i Rothwell, 1982).

La possibilitat de que el fetge sigui un lloc important per a la generació de TID va ésser apuntada en primer lloc per Berry et al. (1985). Aquests autors van observar en estudis de

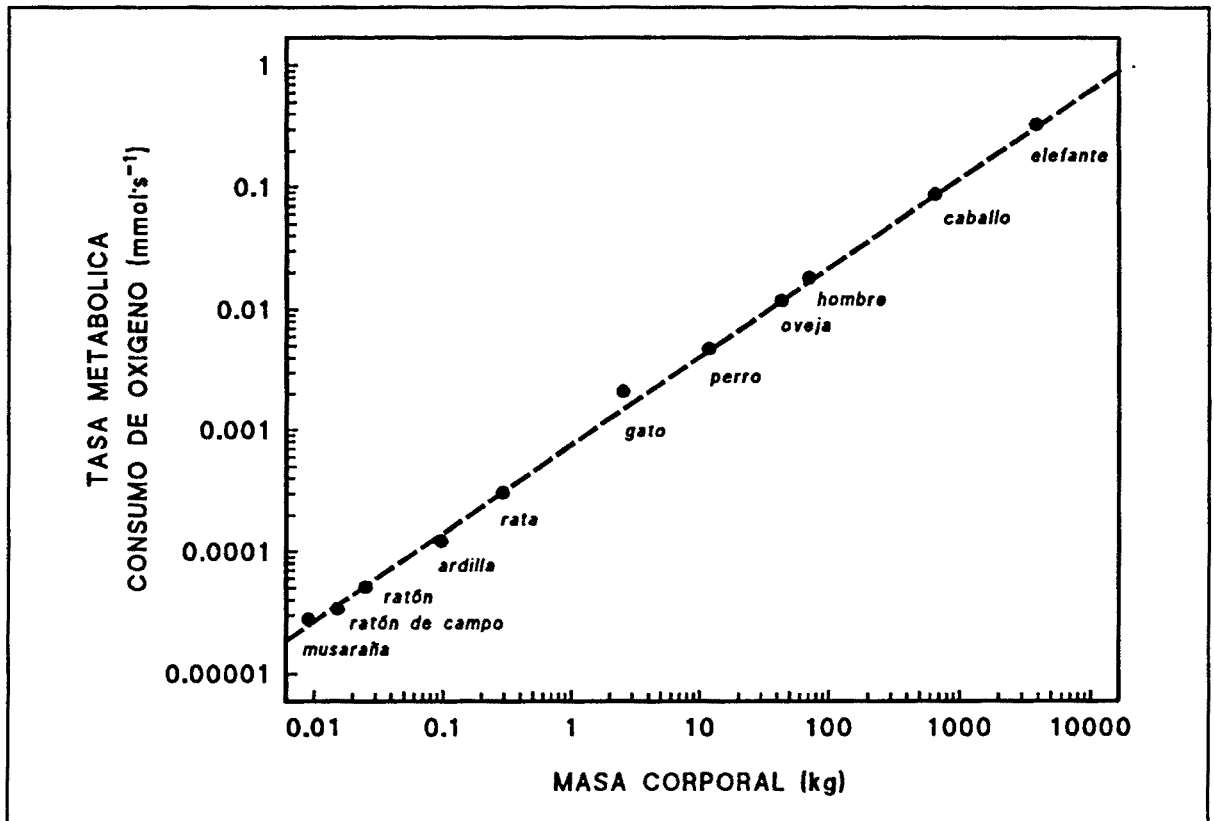
microcalorimetria que els hepatòcits aïllats de rates sotmeses a una dieta de cafeteria tenien taxes de captació d'oxigen més altes que les rates control en presència de glicerol o sorbitol; i que també mostraven taxes més altes d'oxidació d'àcids grassos. Per altra banda alguns autors no han pogut confirmar el paper del TAM en la TID mitjançant la mesura del consum d'oxigen en rates alimentades amb dieta de cafeteria i que presentaven un elevat consum global d'oxigen, inhibible per l'antagonista  $\beta$ -adrenèrgic propanolol (Ma et al., 1986). En estudis posteriors amb animals sotmesos a dieta de cafeteria en els que se'ls havia practicat hepatectomia parcial s'observà que la producció de calor disminuïa en una proporció semblant als valors de la TID i que l'administració de propanolol —que no afecta la producció de calor en animals control però sí en els alimentats a dieta de cafeteria— tenia un efecte significativament més petit en els animals hepatectomitzats que no pas en els que se'ls havia practicat una operació sense extracció de fetge. Aquesta diferència suggereix, segons aquests autors (Ma et al., 1987), que al voltant del 70% de la fracció més alta de consum d'oxigen en les rates de cafeteria inhibible pel propanolol —que correspon a la mesura de la TID mitjançada pel sistema nerviós simpàtic— resideix al fetge.

### 1.5.3 Taxa metabòlica i pes corporal

És evident que un animal de pes corporal elevat té una producció de calor o taxa metabòlica més gran que un animal petit, és dir, consumeix més oxigen (Figura 6). En canvi, si ho expressem per unitat de pes corporal la taxa de consum d'oxigen per gram decreix a mida que augmenta la mida corporal. Aquest gran augment de consum d'oxigen dels animals petits requereix que l'aportació d'oxigen, i per tant el flux sanguini, per gram de teixit, en un animal petit sigui centenars de vegades més gran que per animals grans. Altres variables fisiològiques es veuen afectades de manera similar (Schmidt-Nielsen, 1975).

La representació de la taxa de consum d'oxigen per unitat de temps, per l'animal sencer, respecte del seu pes corporal segueix una equació de tipus exponencial. La seva linealització logarítmica ens dona una recta, la pendent de la qual és igual a l'exponent que dona la proporcionalitat entre la taxa metabòlica i el pes corporal (és a dir, l'exponent de l'equació sense linealitzar). Hemmingsen (1960) va compilar dades de la taxa metabòlica i del pes corporal de tots tipus d'animals, tant vertebrats com invertebrats, arribant a la conclusió que la majoria d'animals tendeixen a caure en rectes de pendent 0,75. El fet que aquest fos un fenomen comú per organismes tan diferents va fer pensar que seguien una regla biològica general. De fet, un segle abans Rubner (1883) ho havia explicat amb l'anomenada llei de la superfície de Rubner. Segons aquesta llei, els animals petits tenen una relació superfície/volum més alta que els animals de mida més gran, i en conseqüència, els primers perden més calor. Però aquesta explicació no és del tot satisfactòria, doncs aquest no és el problema dels animals poiquiloterms i també s'ajusten a l'exponent 0,75. I per altra banda, si la taxa metabòlica fos proporcional a la superfície, l'exponent seria 0,67 (Rubner, 1883).

Per tant, una de les principals discrepàncies a l'hora d'expressar la taxa metabòlica en unitats comparables per animals de mida corporal diferent, roman en la no coincidència de les dades experimentals (0,75) amb el valor teòric de la llei de superfícies (0,67). El cert és que la raó d'aquesta desviació del valor esperat no es coneix.



**Figura 6:** Variació de la taxa metabòlica (consum d'oxigen) en funció de la massa corporal per animals de diferents espècies. Els eixos estan en escala logarítmica.

La necessitat d'expressió de la taxa metabòlica en unitats comparables no es limita a les comparacions entre espècies allunyades dins l'escala filogenètica, sinó que també representa un problema en comparar animals de la mateixa espècie però de mida diferent. Aquest és el cas de comparar animals que presenten obesitat amb d'altres de la mateixa soca però prims. Però, si bé el tradicional exponent de 0,75 ha estat recentment criticat per considerar-se aplicable només a comparacions inter-específiques (Feldman i McMahon, 1983), o no aplicable a comparacions inter-específiques ni intra-específiques (Heusner, 1984), recentment s'han determinat els exponents específics per casos molt concrets d'animals obesos, com és el cas de la rata Zucker (Refinetti, 1989), trobant-se exponents tant per les obesos com per les primes que no difereixen de 0,75. Per tant, malgrat la polèmica al voltant d'aquest valor sembla ser que el que més s'ajusta a les nostres necessitats és el de 0,75.

## 1.6 Control hormonal del balanç energètic

### 1.6.1 Insulina i glucagó

El paper de la insulina en el control del balanç energètic és fonamental, doncs aquesta regula la disponibilitat de substrats per les cèl·lules de l'organisme, especialment la captació de glucosa i

l'activitat lipoproteïna lipasa, enzim que trenca els triacil-glicerols permetent l'entrada dels àcids grassos resultants a la cèl·lula (Eckel, 1987).

La insulina està generalment associada doncs, a processos anabòlics, com són el creixement i la deposició de lípids, però també hi ha evidències de que es requereix per la termogènesi, un procés clarament catabòlic. Els animals diabètics no són capaços de mantenir la seva temperatura corporal durant l'exposició aguda al fred (Poe et al. 1962), mostren respostes alterades a l'administració de noradrenalina i una TID anormal, a menys que siguin tractats amb insulina.

Per altra banda, la inducció d'hiperinsulinèmia en les rates els provoca un augment del contingut de lípids corporals i de la despesa energètica, en paral·lel al grau d'hiperfàgia, però els efectes d'aquesta hiperfàgia són minimitzats per la producció de calor en la TID (Dulloo i Girardier, 1989). Això suggereix que malgrat que la termogènesi al TAM depèn principalment de l'oxidació d'àcids grassos, també hi ha un requeriment de glucosa que no pot ser satisfet en absència d'insulina (Stock i Rothwell, 1982).

S'han suggerit diverses vies a través de les quals la insulina podria estimular el teixit adipós marró. Una via podria ésser a través de l'estimulació del sistema nerviós simpàtic (Rowe et al., 1981), però aquest mecanisme podria ser més important a temperatures properes a la neutralitat que no pas en el fred; de fet l'exposició al fred provoca baixades en la concentració d'insulina plasmàtica, possiblement activant el sistema nerviós simpàtic i conseqüentment inhibint la secreció pancreàtica d'insulina (Vallerand et al., 1983). Una altra via podria ser una acció directa de la insulina sobre el TAM, però estudis amb adipòcits marrons aïllats indiquen que la insulina no estimula directament la termogènesi, sinó que, al contrari, inhibeix parcialment els efectes calorífics de la noradrenalina (possiblement a través dels seus efectes anti-lipolítics) (Bukowiecki, 1985). I finalment exercint la insulina un paper purament permissiu (Shibata et al, 1987).

El glucagó també podria estar implicat en la regulació específica de la producció de calor en l'aclimatació al fred (Kuroshima et al., 1984). Més recentment s'ha observat alliberament de glucagó quan la termogènesi no tremolosa era estimulada per la noradrenalina, i que estava relacionat amb l'aclimatació al fred (Kuroshima et al., 1988). Això vol dir que el glucagó podria participar, en part, en l'augment de termogènesi durant l'aclimatació al fred, en col·laboració amb la noradrenalina.

Per altra banda, el glucagó va ser un dels primers pèptids testats amb possibles efectes sobre la sacietat, indicant que la seva administració disminuïa la gana en humans (Stunkard et al., 1955). Estudis posteriors indiquen que el glucagó, sota certes condicions experimentals, pot reduir la ingesta, ja que provoca un estat de sacietat en animals experimentals i en l'home (Gibbs i Smith, 1992).

### 1.6.2 Hormones tiroïdees

L'efecte de les hormones tiroïdees en el metabolisme energètic pot ser molt important. La principal hormona de la glàndula tiroïdea és la tiroxina ( $T_4$ ) però l'hormona fisiològicament més activa és la triiodo-tironina ( $T_3$ ). En l'hipertiroïdisme l'excés d'aquestes hormones provoca un fort augment de la taxa metabòlica en dejú (de l'ordre del 100%), mentre que en la situació inversa, és a dir, en l'hipotiroïdisme, es produeix un marcat descens d'aquesta (aproximadament d'un terç). Aquests són

però estats patològics i la influència de les hormones tiroïdees sota condicions normals són menys òbvies.

Els nivells sèrics de  $T_3$  responen ràpidament als canvis en la ingesta energètica. Durant la restricció d'aliments els nivells de  $T_3$  cauen i es reverteix l'efecte amb la re-alimentació (Jung et al., 1980), mentre que sota la sobrealimentació (Danforth et al., 1979), especialment amb dietes riques en glúcids (Jung, 1984), es produeix un augment dels nivells de  $T_3$ . Aquestes respostes semblarien apropiades a condicions que requereixen respectivament, la conservació i dissipació d'energia.

De tota manera però, no sembla que els efectes termogènics de la  $T_3$  estiguin directament implicats en el control de la despesa energètica. Així en experiments on s'han mantingut constants els nivells de  $T_3$  encara es produeixen canvis en la taxa metabòlica, indicant que les fluctuacions produïdes per variacions en la ingesta energètica simplement faciliten els efectes del sistema nerviós simpàtic sobre la termogènesi. Per una altra banda però, hi ha un gran nombre d'evidències que relacionen l'acció de les hormones tiroïdees amb el sistema nerviós simpàtic, per exemple augmentant el nombre de receptors  $\beta$ -adrenèrgics; sense tiroides les respostes metabòliques a l'estimulació simpàtica estan considerablement esmorteïdes; l'administració de noradrenalina estimula la conversió de la tiroxina a  $T_3$  per la 5'-mono-desiodasa en teixits perifèrics (Wiersinga et al., 1980), inclòs el TAM (Silva i Larsen, 1985). El paper de les hormones tiroïdees en la termogènesi sembla ser doncs, essencialment permissiu i facilitador (Stock i Rothwell, 1982).

### 1.6.3 Hormones sexuals

Les hormones esteroïdees influeixen en la ingesta energètica i en el pes corporal, i això és il·lustrat pels canvis de pes de femelles de moltes espècies, i potser en menor grau en la dona, durant el cicle estral o menstrual. Alguns d'aquests canvis en el pes es deuen a oscil·lacions en el contingut d'aigua, però els estrògens també inhibeixen la ingesta, i l'ovariectomia en rates femelles adultes induïx hiperfàgia i obesitat, que són reversibles amb un tractament amb estrògens (Wade, 1972).

La progesterona, si bé amb efectes menys marcats, estimula la ingesta i la deposició de greix (Hervey i Hervey, 1967). Això es pot deure a que suprimeix la producció endògena d'estrògens, ja que aquest efecte no es produeix en animals immadurs.

Pel que fa als andrògens, els nivells de testosterona són baixos en l'obesitat mòrbida en l'home (Barbato i Landau, 1974). Per altra banda, la testosterona i altres andrògens afecten significativament el pes corporal, sobre tot incrementant la deposició de proteïna muscular (Hervey i Hervey, 1981), fet que ha estat utilitzat per incrementar la potència física d'atletes als que hom subministrava diversos anabolitzants androgènics (Hervey et al., 1976).

Les hormones sexuals afecten considerablement la quantitat i distribució de greix en l'adult. Així els andrògens estan relacionats amb l'aparició de masses grasses viscerals i subcutànies al ventre i els estrògens amb la deposició de greix als malucs i natges (Björntorp, 1989). Les característiques bioquímiques i de resposta hormonal d'aquests tipus de dipòsits grassos són també diferents (Björntorp, 1989).

#### 1.6.4 Glucocorticoides

Els corticosteroides adrenals indueixen un augment de la ingesta d'aliments, mentre que l'adrenalectomia provoca hipofàgia i pèrdua de greix corporal en animals adults (Rothwell i Stock, 1988). El pes de les glàndules adrenals i la seva secreció poden estar elevades o no en rossegadors i humans obesos, i poden contribuir per tant a l'excés de deposició de lípids. L'adrenalectomia també reverteix o prevé algunes formes d'obesitat, tant genètiques com induïdes per la dieta (York i Godbole, 1979), i l'administració de corticosterona als animals obesos adrenalectomitzats torna a elevar la seva ingesta calòrica (Yokimura et al., 1978).

L'activació del TAM per l'adrenalectomia està associada amb un augment del recanvi de noradrenalina (Marchington et al., 1986) i no es produeix si el teixit s'ha denervat (Rothwell i Stock, 1984). En rates normals que desenvolupen una obesitat moderada amb l'edat, l'adrenalectomia també els estimula el TAM (Rothwell et al., 1984), però hi ha dades més recents que la hipofisectomia exerceix efectes encara més potents que l'adrenalectomia (Rothwell i Stock, 1985). Sugerint que el punt de control i efecte de l'eix hipotàlem→hipòfisi→adrenals sobre el pes corporal no es limita a una actuació mitjançada pels corticosteroides, ja que l'ACTH té efectes propis relacionats amb l'aparició i manteniment de l'obesitat (Komindr et al., 1986) i el CRH que controla la seva secreció intervé efectivament entre altres punts en el control de la ingesta (Levine et al., 1983).

Malgrat el nostre considerable desconeixement de la funció dels corticosteroides en el control del pes corporal, sembla que la seva importància a mig i llarg termini no es poden deixar de banda, especialment quan l'obesitat acostuma a manifestar-se en paral·lel a diverses alteracions de l'eix hipotàlem→hipòfisi→adrenals (Marchington et al., 1983).

#### 1.6.5 Altres hormones

Varies hormones produïdes pel tracte gastro-intestinal poden influir en el balanç energètic, sobre tot en la ingesta. Una de les més potents d'aquestes hormones és la **colecistoquinina**, que inhibeix la ingesta. Aquesta hormona peptídica intestinal també es troba amb nivells relativament elevats en el cervell (Baile et al., 1983) i actua com un senyal de sacietat (Gibbs et al., 1975). A més s'havia considerat que aquesta hormona podia participar potencialment en el mecanisme d'acció del defecte genètic del ratolí ob/ob, ja que alguns autors havien descrit nivells extremadament baixos d'aquesta hormona en cervell (Straus i Yallow, 1975); recentment s'ha localitzat el gen que codifica per aquest peptid en un cromosoma diferent al que va lligada l'obesitat en aquest ratolí.

La **hormona de creixement** (GH), potencia la deposició de materials al cos, afavorint així el creixement. Es va observar que les rates Zucker presentaven un creixement enlentit i que els seus nivells hipofisaris de GH eren baixos (Martin et al., 1977), per això es va associar la deficiència d'aquesta hormona amb l'obesitat. Posteriorment s'ha vist que aquests nivells baixos són posteriors a l'establiment de la hiperinsulinèmia, i que la insulina podria regular l'expressió del gen de la GH (Yamashita i Melmed, 1986).

Alguns autors però mantenen que els efectes lipolítics i de conservació del nitrogen d'aquesta



hormona poden mitigar les pèrdues de massa magra que es produeixen en tractaments amb dietes hipocalòriques, contribuint a més a la reducció dels lípids corporals. En aquest mateix sentit s'ha mostrat el tractament amb GH de rates Zucker obeses (Martin et al., 1989).

## 1.7 Control neural del balanç energètic

Com la majoria de funcions en el nostre organisme, el balanç energètic es creu regulat en última instància pel sistema nerviós, tant a nivell central (SNC) com perifèric (SNA), que integraria tota la informació metabòlica i hormonal. Això fa que el control de la gana s'hagi d'enfocar no solament des d'un punt de vista purament metabòlic, sinó que cal tenir en compte tres nivells (Blundell, 1991):

- 1) Esdeveniments psicològics (percepció de la gana, sensacions hedonístiques) i de comportament (àpats, ingesta energètica i de macro-nutrients).
- 2) Esdeveniments perifèrics metabòlics i fisiològics.
- 3) Neurotransmissors i interaccions metabòliques al nivell del cervell.

En aquest sentit, Bray va proposar un model del control de les reserves energètiques basat en la teoria dels sistemes de control (Bray i Campfield, 1975), el qual ha anat polint amb els anys i ha generat la hipòtesi autonòmica i endocrina de l'obesitat. En síntesi aquest model proposa l'existència d'un **controlador** situat al cervell que integra la informació de varies **senyals aferents** o de retroacció (feedback), inclosa la informació sensitiva distant i els missatges metabòlics i neurals interns. Amb aquesta informació aferent el controlador emet **senyals de control eferents** que regulen la ingesta i el medi metabòlic. El **sistema controlat** consisteix en la ingesta, l'emmagatzemament i metabolisme dels aliments, així com les vies de dissipació energètica (Figura 7) (Bray, 1989).

### 1.7.1 Paper del sistema nerviós central (SNC)

Varies regions anatòmiques del cervell semblen jugar un paper important en el control del balanç energètic, però en concret cal destacar l'hipotàlem. Així la destrucció de la regió ventro-medial (VMH) s'associa amb la hiperfàgia i l'obesitat en la major part d'espècies estudiades (centre de la sacietat) (Hetherington i Ranson, 1940; Bray et al., 1989). Pel contrari, la destrucció de la zona lateral de l'hipotàlem (LH) està associada a un descens de la ingesta i a la pèrdua de greix corporal (centre de la gana) (Anand i Brobeck, 1951). Això va portar al desenvolupament del model de centre dual, el qual està actualment pràcticament descartat, ja que s'ha vist que, per exemple, les lesions en l'àrea lateral produïen efectes bloquejants sobre totes les conductes voluntàries i no específicament sobre la ingesta (Ungerstedt, 1971). Més recentment, el nucli para-ventricular (PVN) ha demostrat ser una regió important per l'estimulació de la ingesta després de la injecció de noradrenalina (Luiten et al., 1987) i neuropèptids (Leibowitz i Stanley, 1986). El lloc destacat del VMH en la regulació de les reserves lipídiques es suggereix pel fet que la infusió crònica de noradrenalina al VMH produeix obesitat, mentre que la infusió al NPV no té efectes aparents (Shimazu et al., 1986).

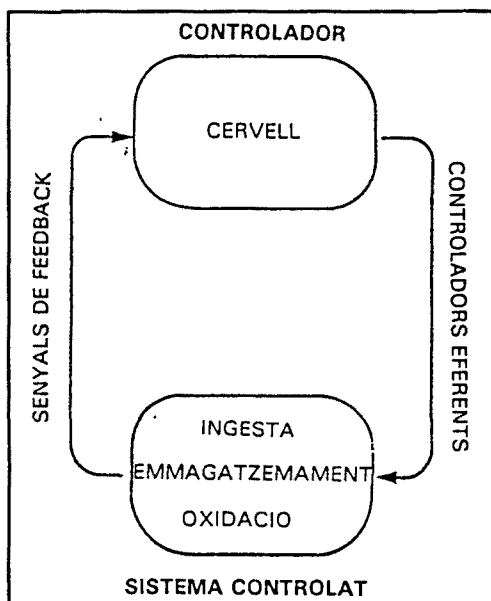


Figura 7: Model de retro-inhibició per la regulació de la ingesta. El cervell es presenta com el controlador central; la ingesta, emmagatzemament i oxidació d'aliments és el sistema controlat; les senyals aferents i eferents connecten aquests components del sistema.

Un altre fet que fa que l'hipotàlem tingui importància en aquest context és la seva estreta relació amb la hipòfisi i tot el sistema hormonal. A més a més, el SNS s'origina en la formació reticular del pont i medul·la, i malgrat que aquests centres tenen una activitat intrínseca, el seu estat funcional està influït per centres de l'hipotàlem, còrtex i lòbuls límbics (Landsberg i Young, 1983)

A més de la noradrenalina, poden estar implicats altres neuro-transmissors en la transmissió central de la informació que regula el balanç energètic. Així la serotonina inhibeix la ingesta, ja que les drogues que bloquegen el seu efecte provoquen un augment del pes corporal, mentre que les que estimulen el seu alliberament o inhibeixen la seva captació pels terminals nerviosos provoquen una reducció del pes corporal (així actua, per exemple, la fenfluramina (Andersen et al., 1992). El triptòfan i el 5-hidroxi-triptòfan —dos precursors de la serotonina o 5-hidroxi-triptamina— indueixen decrements de la ingesta (Bray, 1990). De manera similar, l'àcid 4-amino-butíric (GABA) es presenta amb nivells diferents a l'àrea lateral de l'hipotàlem segons l'estat de privació alimentícia de l'animal. Amb la hipoglucèmia, els nivells de GABA a l'àrea VMH augmenten, mentre que baixen en la LH (Kimura i Kuriyama, 1975). L'activitat del GABA a l'àrea LH és més baixa en rates famolenques i més alta en rates saciades en relació als controls (Kasser et al., 1985). Elevacions del GABA total al cervell estan associades amb reduccions voluntàries de la ingesta (Coscina i Nobrega, 1984).

Hi ha descrits alguns altres neuropèptids que també poden modular la ingesta: així el neuropèptid Y, la  $\beta$ -endorfina, la dinorfina i la galanina estimulen la ingesta quan s'administren als nuclis VMH i PVN (Morley, 1987), mentre que la bombesina, la colecistoquinina, la neurotensina, la somatostatina i el factor alliberador de corticotropina (CRF) poden inhibir la ingesta quan s'apliquen tòpicament al VMN (Morley, 1987).

Actualment hom considera que metabòlits com el 3-hidroxi-butirat poden jugar un paper important en aquest control neural. El 3-hidroxi-butirat és un producte del metabolisme dels lípids i actua en el cervell per reduir la ingesta i/o el pes corporal (Fisler i Bray, 1990), així com la termogènesi del teixit adipós marró (Cañas, 1992)

## 1.7.2 Paper del sistema nerviós perifèric

### a) El sistema nerviós simpàtic (SNS)

La noradrenalina és el principal neurotransmissor adrenèrgic, i es sintetitza i emmagatzema als terminals nerviosos perifèrics, sent alliberada en resposta als impulsos nerviosos eferents que arriben a les fibres simpàtiques terminals. La noradrenalina actua principalment en les rodelles del seu lloc d'alliberament i sota moltes circumstàncies no actua com una hormona circulant. En canvi, l'adrenalina és l'hormona circulant alliberada per la medulla adrenal, lliurada com a resposta als estímuls dels nervis esplànquics, i actua sobre els receptors adrenèrgics de tot el cos.

La implicació directa del SNS en la regulació de la temperatura va ser suggerit fa uns 30 anys en uns experiments en els que es va veure que l'administració d'un bloquejant ganglionar abolia l'augment del consum d'oxigen en animals adaptats al fred, i en canvi no tenia efecte l'atropina (antagonista colinèrgic, és a dir, inhibidor de l'activitat parasimpàtica). Una dosi prèvia de noradrenalina impedia el descens del consum d'oxigen degut al bloquejant ganglionar (Hsieh et al., 1957).

Posteriorment s'ha observat que el TAM està densament innervat amb terminals simpàtiques; el seu contingut en noradrenalina és més alt que el d'altres teixits, i augmenta molt durant l'aclimatació al fred (Young et al., 1982). Vàries tècniques experimentals han demostrat la importància d'aquesta innervació del TAM: l'estimulació elèctrica provoca un augment de la producció de calor (Smith i Horwitz, 1969); l'exposició crònica i aguda al fred, així com les dietes riques en energia acceleren el recanvi de la noradrenalina al TAM (Young et al., 1982); la denervació del teixit redueix la lipòlisi en animals exposats al fred (Slavin i Bernick, 1974); etc.

La mesura de l'activitat simpàtica ha estat basada en moltes ocasions en la mesura de la concentració de noradrenalina en el plasma o dels seus metabòlits a l'orina; així, per exemple, aquestes concentracions són altes en l'adaptació al fred (Leduc, 1961). Però cal tenir en compte que si bé aquest constitueix un bon índex d'activitat simpàtica global, no ens forneix informació sobre l'activitat diferencial en els diversos teixits (Landsberg i Young, 1983).

Per altra banda, tant els models d'obesitat genètica com experimental es caracteritzen per problemes en el seu control simpàtic de la termogènesi (Rothwell i Stock, 1982), si bé també és concebible que la hiperfàgia pugui alterar el seu to simpàtic (Peterson et al., 1986). De fet l'estudi del recanvi de noradrenalina ha demostrat una reducció en l'activitat simpàtica durant el dejuni (Young i Jandsberg, 1977a) i una estimulació durant la sobre-alimentació amb sacarosa (Young i Jandsberg, 1977b).

El sistema nerviós simpàtic juga doncs, un paper important en l'activació de la termogènesi adaptativa al TAM (Landsberg i Young, 1983). L'administració de noradrenalina exògena mimetitzava l'efecte de l'estimulació simpàtica i augmenta la producció de calor —del 50 al 200%— en rosegadors petits. Aquest augment depèn de la resposta adaptativa a diferents influències tèrmiques i de la ingesta d'aliments, i ha estat amplament utilitzat per estudiar canvis en la capacitat termogènica (Mejsnar i Janský, 1971). Els estudis amb antagonistes  $\alpha$ - i  $\beta$ -adrenèrgics han mostrat que

l'estimulació de la termogènesi pel sistema nerviós simpàtic o per la noradrenalina exògena és deguda principalment a l'activació dels receptors  $\beta$  (Schonbaum et al., 1966), amb potser un petit component  $\alpha$ -adrenèrgic (Foster, 1985). Com la termogènesi al TAM *in vitro* és mitjançada pels receptors  $\beta$ -adrenèrgics, sovint s'utilitzen agonistes  $\beta$ -adrenèrgics com l'isoproterenol, en lloc de la noradrenalina, tant per estudis *in vivo* com *in vitro* sobre la termogènesi. Recentment s'ha desenvolupat una nova sèrie d'agonistes  $\beta$ -adrenèrgics, que presenten el tret comú que tots ells han estat desenvolupats com a drogues potencialment termogèniques pel tractament de l'obesitat; és per aquesta raó que han estat dissenyades amb relativament pocs efectes mitjançats per receptors  $\beta_1$ - i  $\beta_2$ -, que sí manifestaven els agonistes convencionals. A més, són altament selectius per la termogènesi i són més potents. Tot això fa pensar que els receptors del TAM són atípics, i s'ha proposat d'anomenar-los receptors  $\beta_3$ - (Carlisle i Stock, 1991).

#### *b) El sistema nerviós parasimpàtic (SNP)*

Les fibres vagals que s'originen al fetge són estimulades pels nivells baixos de glucosa a la sang, aquestes fibres arriben a l'hipotàlem, el qual és capaç de revertir la hipoglucèmia a través de la seva influència sobre els patrons hormonals així com augmentant la ingesta (Langhans i Scharrer, 1987).

En animals amb obesitat hipotalàmica hi ha evidències d'activitat parasimpàtica eferent (nervi vagus) incrementada. L'estimulació vagal ajuda a augmentar la secreció d'insulina que caracteritza l'obesitat (Bray et al., 1989), i en rossegadors obesos la vagotomia aboleix dràsticament la hiperinsulinèmia i la hiperfàgia (Giorgino et al., 1992)

L'estudi d'individus als que els ha estat practicada la vagotomia han mostrat que aquesta augmenta el consum d'oxigen i la pressió sanguínia en rates aclimatades al fred, suggerint un efecte supressor de la resposta termogènica per part del SNP, paral·lelament a una activitat més gran d'aquest sistema en l'adaptació al fred (LeBlanc i Cote, 1967).

Alguns autors han demostrat que en humans, el bloqueig  $\beta$ -adrenèrgic amb propranolol no influència la TID, però que en canvi l'administració de l'antagonista colinèrgic atropina en provoca una inhibició considerable (Nacht et al. 1987).

## 2. L'OBESITAT

### 2.1 Definició

Encara que sembli, a primer cop d'ull, prou senzill definir l'obesitat, no tots els autors es posen d'acord en la manera de definir-la i, sobre tot, de quantificar-la. Així comunment entenem per obesitat una situació en la qual el pes corporal és (molt) més alt del que caldria esperar de l'alçada i estructura òssia de l'individu en qüestió. De fet aquest és un criteri molt utilitzat en la praxis mèdica, però cal tenir en compte que el sobrepes pot venir determinat per molts factors, com per exemple l'edema o fins i tot l'embaràs, situacions que de cap manera associem amb l'obesitat.

És per això que cal concretar més aquesta definició: l'obesitat és sovint descrita com una acumulació excessiva de greix. Però per saber quan una quantitat és excessiva cal establir primer els marges de normalitat, tasca difícil de dur a terme si tenim en compte que els estudis antropomètrics sovint no tenen en consideració factors que influeixen profundament en el pes corporal, tals com l'estat nutricional o la constitució pròpia de la població estudiada (Peña, et al., 1987). Malgrat això hom considera que els valors "normals" de contingut de lípids en l'home es situen entre el 14 i el 20% (homes) i el 21-27% (dones) (Stock i Rothwell, 1982). Però a la pràctica és difícil determinar el contingut de greix en un individu amb mètodes no invasius, és per això que els sistemes més utilitzats són índexs indirectes d'adipositat com el pes o les relacions pes/alçada (veure apartat 2.3.3).

Com podem copsar doncs, l'obesitat no sempre pot ser definida, ja que no existeix un procediment científic i clar per distingir el simple sobrepes i els casos més lleus d'obesitat. A aquesta manca de definició clara cal sumar-hi el caràcter patològic que se li acostuma a atribuir, fet que no està clar en tots els casos. Ben al contrari, la predisposició a l'obesitat constitueix en algunes poblacions un avantatge evolutivament seleccionat (Neel, 1962), al permetre la subsistència en èpoques de manca d'aliments, ja que implicaria una menor necessitat d'energia pel manteniment de les funcions corporals. És a dir, només manifestarien l'obesitat quan disposessin de quantitats suficients d'aliment, desenvolupant una eficiència metabòlica més alta que els permet d'adaptar-se a ingestes més baixes d'aliments. Així doncs, el concepte d'un "genotip famolenc" (Trayhurn i James, 1978) s'associa més a una alta eficiència metabòlica que a una selecció genètica envers l'excessiva ingestió d'aliments. Exemples d'aquest postulat els trobem a certes poblacions humanes i alguns rossegadors del desert. Així l'eríçó (*Acomys cahirinus*) esdevé obès quan es manté en les condicions de laboratori, on l'aliment està constantment al seu abast (Wise, 1977). I certs aborígens australians, subjectes a una forta pressió selectiva amb poca disponibilitat d'aliments durant generacions (Coon, 1963), mostren la mateixa resposta davant l'abundància d'aliments rics en energia que han trobat en l'ambient urbà, tornant-se obesos i presentant una alta incidència de la diabetis.

Una proposta recent amb l'ànim d'unificar criteris a l'hora de definir l'obesitat és la de Björntorp (1990), que proposa anomenar obesitat només a la "obesitat" abdominal i no a l'acumulació perifèrica de greix, ja que, segons aquest autor, només aquest primer tipus està associat amb processos patològics, en especial malalties cardio-vasculars (Björntorp, 1989).

## **2.2 Desenvolupament històric de les idees científiques i culturals sobre l'obesitat**

De fet s'han identificat casos d'obesitat ja a l'Edat de Pedra, representats en estàtues de deeses, que ja van ser descrits en temps de Galè i l'Imperi Romà (Gimbutas, 1974). El concepte de que l'obesitat és un risc per la salut ja va ser posat de manifest per Hipòcrates (Precupe, 1952) i si bé primer es discutia l'obesitat en textos generals, al segle XVI ja era tractada acadèmicament i al segle XVIII apareixen les primeres monografies.

Hipòcrates ja donava valor a la restricció d'aliments, a l'exercici i el dormir poc per prevenir i combatre l'obesitat. Val a dir que en molts moments de la Història, fins i tot actualment, s'ha qualificat l'obesitat com un defecte "moral" per part de l'individu obès (Green, 1951).

Per altra banda molts conceptes implicats en la base de la recerca actual sobre l'obesitat tenen el seu origen al segle XVIII o abans, així per exemple va ser poc després de la identificació de les cèl·lules com a tals que es va relacionar l'obesitat amb un augment de la massa de cèl·lules adiposes. I després de la introducció dels principis de la calorimetria per Lavoisier es va començar a pensar en la possibilitat d'algun desajustament metabòlic. La implicació de factors familiars també va ser intuïda en aquesta època .

Més recentment s'ha incidit més en els desordres de la nostra conducta alimentària, en una teoria només aplicable als nostres temps, que fa referència a la tendència a restringir la ingesta per tal de controlar el pes (Nisbett, 1972). Si bé és evident que un concepte transitori en el temps no pot explicar el manteniment d'un estat d'obesitat, aquesta teoria ha donat peu a l'elaboració d'uns qüestionaris psicològics (Eating Inventori) que tenen certa aplicació en la difícil tasca del tractament dietètic de l'obesitat (Stunkard i Wadden, 1990).

## **2.3 Classificació**

Existeixen nombroses classificacions del individus obesos. A continuació s'exposen algunes de les més utilitzades.

### *2.3.1 Per les característiques anatòmiques del teixit adipós*

- a) Augment en el nombre de les cèl·lules adiposes. Es a dir, per un mecanisme d'hiperplàsia del teixit adipós, es dona normalment en l'obesitat d'aparició primerenca i sol estar present en individus que presenten un sobrepes per sobre

del 75% del pes aconsellat (Björntorp, 1985).

b) Augment en la mida de les cèl·lules adiposes. En aquest cas es produeix una hipertròfia del teixit adipós, les cèl·lules són més grans i contenen més lípids. Pot iniciar-se tant en l'infantesa com en l'edat adulta i en ocasions va associada amb l'embaràs.

c) Distribució del greix en el cos. Segons la localització anatòmica, els dipòsits lipídics presenten diferents característiques metabòliques, segons això Bouchard (1991) proposa la següent classificació:

—Obesitat de tipus I: caracteritzada per un excés de greix en general, però sense cap localització destacada particularment.

—Obesitat de tipus II: excés de greix principalment subcutani a la regió abdominal, que constitueix el també anomenat tipus androide.

—Obesitat de tipus III: excés concentrat en la zona visceral.

—Obesitat tipus IV: amb una localització glúteo-femoral o també coneguda com obesitat ginoidea.

### 2.3.2 Segons l'edat d'aparició

#### a) *Obesitat infantil*

L'obesitat pot iniciar-se en qualsevol edat, però el pes en néixer no sembla un factor determinant (Bray, 1976), així com tampoc el pes durant el primer any de vida. En canvi quan l'obesitat apareix entre els 4 i els 11 anys sol coincidir amb l'hiperplàsia del teixit adipós i pot perllongar-se en l'edat adulta (Bray, 1989).

#### b) *Obesitat en adults*

La majoria d'obesitats es produeixen passada la pubertat i en la dona sovint està associada amb la gestació (McKeown i Record, 1957). Després d'un període en el que pes es sol mantenir estable, comença un període final de disminució del pes; una mostra d'això és el fet que l'obesitat entre la gent gran és relativament rara.

### 2.3.3 Segons la intensitat de l'obesitat: quantificació del sobrepes

Podem classificar els diferents tipus d'obesitat segons el grau de sobrepes. Per quantificar aquest grau de sobrepes s'han establert diferents tipus de mesures i índexs.

a) D'entre aquests un dels més populars és el que obté el **pes ideal** d'un individu de restar 100 de la seva talla en cm.

b) **BMI o índex de Quetelet**. Està molt estès en la bibliografia, malgrat les seves limitacions (Garrow i Webster, 1985). Relaciona el pes amb l'alçada al quadrat.

$$\text{BMI} = \text{pes (kg)} / \text{alçada}^2 \text{ (m}^2\text{)}$$

D'acord amb aquest índex s'establirien tres graus segons la gravetat de l'obesitat:

—Obesitat de tipus I: definida per índexs entre 25 i 30, considerada com una obesitat moderada, senzillament com un sobrepes.

—Obesitat de tipus II: amb índex que oscil·len entre 30 i 40.

—Obesitat de tipus III o mòrbida, que provoca seriosos problemes per la salut dels individus que la pateixen, s'hi consideren els que presenten índexs superiors a 40.

- c) **Quocient cintura: malucs (WHR).** S'obté de dividir la longitud de la circumferència de la cintura per la dels malucs. D'una manera aproximada, quocients inferiors a 0,8 correspondrien a homes prims i els més grans de 0,9 a casos d'obesitat extrema (en el cas de les dones els límits serien 0,7 i 0,8 respectivament) (Lapidus et al., 1984).
- d) **Mesura del gruix de plecs de pell.** Aquestes mesures es realitzen en varies zones pre-determinades i presenten un alt grau de correlació amb la quantitat de greix subcutani, central i total (Ducimietre et al., 1986).
- e) **Determinació de la densitat corporal** per pesada sota de l'aigua. Es basa en la més baixa densitat dels lípids, i per tant del teixit adipós (0,9), front a la dels altres teixits en conjunt (1,1). La densitat global del cos s'obté de dividir la massa corporal pel volum d'aquest, obtingut de restar la massa corporal de la massa en immersió.
- f) **Altres.** Dins d'aquest apartat incloem tota una sèrie de tècniques més sofisticades, no tan extensament utilitzades com les anteriors (Gray, 1989) com són les que utilitzen ultrasons, tomografia axial computeritzada, imatges de ressonància magnètica nuclear, mesura del potasi corporal, dilució isotòpica (amb aigua tritiada o <sup>85</sup>Kr) i les tècniques d'anàlisi de la impedància bio-elèctrica (Bray, 1989).

#### 2.3.4 Classificació etiològica

De fet les causes bioquímiques o metabòliques de l'obesitat no es coneixen, i en general hom creu que són causes multifactorials, que tenen en comú el manifestar-se de la mateixa manera, és a dir, amb un excés de reserves lipídiques. Això és especialment cert en el cas de l'home, en el que a més hi poden estar implicats, per exemple, condicionants psicològics.



a) *Factors implicats*

A grans trets podem resumir les causes de l'obesitat en dos factors bàsics, l'herència i l'ambient.

1) *Herència*. L'herència de l'obesitat en l'home es descriu com una herència parcial multifactorial (Stunkard et al., 1986). La majoria d'evidències a favor d'aquesta afirmació provenen d'estudis amb bessons o d'estudis d'obesitat familiar. També es coneixen varies situacions genèticament heredables en les que es dona l'obesitat, com per exemple la síndrome de Prader-Willi (Gabilan, 1962). En aquest sentit doncs, podríem dir que els factors genètics operen en un primer terme, fent l'individu resistent als factors ambientals que tendrien a facilitar l'aparició de l'obesitat (Bray, 1981). És a dir, que la tendència a l'obesitat no pot acabar generant-la si no es troba amb els condicionants ambientals adequats; i a l'inrevés, que per exemple un excés de disponibilitat d'aliment no provocarà per sí sol un estat d'obesitat. Cal, per tant, que ambdós factors coincideixin a l'hora. Així s'han fet alguns intents per quantificar la importància relativa dels diferents factors que poden influir en el desenvolupament de l'obesitat humana (Bouchard, 1991), xifrant-se la influència dels condicionants genètics en un 25%, els de transmissió cultural en un 30% i es deuria a factors no transmissibles en un 45%.

2) *Ambient*. Pel que fa a l'ambient, podem considerar aquest des de tres perspectives diferents que intervenen en l'establiment de l'obesitat (Alemany i Remesar, 1991):

- l'alimentació
- el medi ambient.
- el medi social.

—*Alimentació*: la ingestió d'aliments és, com ja s'ha dit en altres parts d'aquest treball, un element important a tenir en compte, però no és l'únic. A més de la seva disponibilitat quantitativa cal considerar altres factors, com la seva composició en nutrients, la freqüència de la seva ingestió, etc, i no només en un moment determinat de la seva història, sinó al llarg del seu desenvolupament ja des de la vida intra-uterina.

—*Medi ambient*: dins d'aquest apartat hem de considerar tots els factors de l'entorn en el que es mou l'individu que influeixen en la seva despesa energètica, com per exemple el clima, en especial la temperatura, però també la lluminació, el treball realitzat, etc.

—*Medi social*: Tot i que aquest sembli un factor secundari en el desenvolupament de l'obesitat, les relacions inter-personals, a través de la seva influència sobre l'estat psicològic de les persones, hi juguen un paper important. Així existeix una relació directa entre l'estat anímic i la sensació de gana. Tampoc

cal oblidar l'efecte de la pressió social negativa en rebuig de la pròpia obesitat, que arriba a límits exagerats en el cas de l'anorèxia nervosa, en la que els individus afectats manifesten el rebuig de la pròpia imatge bloquejant la sensació de gana. En aquest punt també hi podem incloure les diferents tendències dels models estètics que invariablement acompanyen a cada època de la nostra Història.

L'herència i l'ambient, incideixen en els individus de diferent manera, provocant en alguns, desequilibris en diferents mecanismes que controlen el pes corporal. Segons el/s mecanisme/s afectat/s podem classificar l'obesitat segons la seva etiologia o causa immediata (Alemany, 1989), que pot coincidir o no amb la seva causa inicial.

#### b) *Classificació*

- Hipotalàmica
- Bulímica
- Digestiva
- Hiperinsulinèmica
- Altres causes endocrines
- Hipo-termogènica
- set point*
- iatrogènica

1) *Hipotalàmica*. L'obesitat d'origen hipotalàmic seria causada per lesions en els centres hipotalàmics que com hem vist (apartat 1.8.1), regulen la ingesta i el control de la despesa energètica.

2) *Bulímica*. En aquest cas una ingesta exagerada no podria ser compensada pels mecanismes de regulació habituals (Casper, 1986) i l'excés d'energia ingerida hauria de ser dipositada en l'organisme.

3) *Digestiva*. Relacionada amb problemes a nivell de digestió i absorció dels aliments, aquests s'assimilarien en temps més curts i l'organisme no ho podria controlar (Wisén et al, 1987).

4) *Hiperinsulinèmica*. Existeix una estreta relació entre l'hiperinsulinèmia i l'obesitat, ja que la insulina afavoreix la captació de metabòlits pels teixits i activa la lipogènesi. Però malgrat les nombroses referències bibliogràfiques al respecte, sembla ser que els diferents autors només es posen d'acord en tres fets: que la majoria d'individus obesos presenten hiperinsulinèmia (Modan et al., 1985), que desenvolupen resistència a la insulina (Olefsky, 1981) i que a la llarga, l'obesitat desemboca en una diabetis de tipus II (Powers, 1980).

5) *Altres alteracions endocrines*.

—*Hipotiroidisme*: D'entre els diferents problemes endocrins que causen obesitat cal destacar l'hipotiroidisme (Ingbar, 1891), ja que els nivells baixos d'aquesta hormona promouen un augment de la deposició de greixos, degut a l'acció permissiva d'aquestes hormones sobre el metabolisme.

—*Excés de corticosteroides*: En l'home la síndrome de Cushing és la malaltia endocrina que més s'associa a l'obesitat. Es caracteritza per un augment dels dipòsits de greix sobretot a l'abdomen i a la regió facial, i per un canvi del metabolisme en el sentit d'afavorir la deposició de lípids per sobre el de proteïnes, que a més són catabolitzades (Cushing, 1932). Pot ser degut a l'hiperplàsia de les adrenals per una sobre-estimulació per ACTH (per un tumor en l'hipòfisi) o bé a un excés de glucocorticoides (per un tumor en les adrenals).

—*Defecte d'estrògens*: En general, en l'obesitat moderada en l'home no es donen alteracions de la funció hipòfisi-gònades, a menys que el sobrepes esdevingui massiu (Riva et al. 1986). Però de tota manera es dona un hiper-estrogenisme, que si bé no té efectes somàtics o sobre la fertilitat, representa un factor de risc vascular. En canvi en la dona, l'obesitat està associada amb alteracions de la funció ovàrica, si bé amb poca incidència d'alteracions menstruals, l'excés d'estrògens representa un risc important respecte els tumors estrogen-depenents (Riva et al, 1992). La síndrome de l'ovari policístic és la causa més freqüent d'hiper-secreció d'andrògens per part dels ovaris (Givens, 1984).

6) *Hipo-termogènica*. Seria deguda a la incapacitat del sistema termogènic de fer front a l'excés d'energia ingerida, però si bé això està força clar en alguns models animals (Triandafillou i Himms-Hagen, 1983), la importància relativa en l'obesitat humana està per determinar (Rothwell i Stock, 1979), ja que si bé per una part s'ha demostrat una menor resposta al fred en individus obesos (Blaza i Garrow, 1980) i una menor resposta termogènica a la sobrealimentació (Zed i James, 1982), els obesos mostren una taxa metabòlica basal més alta que els que no són obesos (James, et al., 1978).

7) *Set point*. Es basa en l'existència d'un sistema de control que comporta uns nivells "òptims" de reserves, les quals són mantingudes mitjançant els sistemes homeostàtics disponibles, dins d'un marge molt estret de variació sobre el pes establert internament. Aquest model comporta l'existència d'un sistema d'avaluació dels nivells de reserves de greix corporal (Alemany, 1989; Fisler i Bray, 1990).

8) *Iatrogènica*. Certes drogues poden induir obesitat. Així per exemple, els glucocorticosteroides, amplament utilitzats en el tractament crònic de malalties immunològiques, presenta com a efecte secundari el guany de pes, de manera similar al que passa en la síndrome de Cushing (Bray, 1989).

Els antidepressius tricíclics també produeixen un augment de pes. La ciproheptadina, juntament amb les fenotiazines són de les principals drogues que promouen

un augment en el contingut de lípids corporals (Bray, 1976).

De manera similar, els progestàgens, inclosos en píndoles anticonceptives, s'ha descrit que produeixen augment de pes (Bray, 1989).

---

## Taula 1: Models d'obesitat animal

### I. OBESITAT TRANSMESA GENÈTICAMENT:

#### A. Unigènica

##### 1. Dominant

- a) Ratolí groc
- b) Ratolí adipós (*Ad*)

##### 2. Recessiu

- a) Ratolí obès (*ob*)
- b) Ratolí diabètic (*db*)
- c) Fat mouse (*fat*)
- d) Rata Zucker *fa/fa*

#### B. Poligènica

- 1. Ratolí obès de Nova Zelanda (NZO)
- 2. Ratolí japonès KK
- 3. Ratolí Paul Bailey negre (PBB)
- 4. Ratolí Wellesley
- 5. C3HfXf1
- 6. Rata BHE
- 7. Hamster siria
- 8. Pollastre obès OS
- 9. *Acomys cahirinus*  
*Psammomys obesus*  
*Ctenomys talarum*  
*Phodomus sungorus*

### II. OBESITAT INDUÏDA EXPERIMENTALMENT

#### A. Quirúrgica

- 1. Lesions a l'hipotàlam (VMH)
- 2. Castració

#### B. Química

- 1. Tio-glucosa-or
- 2. Glutamat monosòdic
- 3. Altres

#### C. Endocrinològica

- 1. Administració d'insulina
- 2. Administració de corticosteroides
- 3. Hipotiroïdisme

#### D. Nutricional

- 1. Intubació
  - 2. Dieta rica en greixos
  - 3. Dieta de "cafeteria"
-

## 2.4 Models animals

Els tipus d'obesitat mencionats en l'apartat anterior però són conseqüència, en la majoria de casos, de la combinació de més d'una causa, fet que dificulta el seu estudi. És per aquesta raó que s'han buscat models animals que permetin un estudi sistematitzat, parcialment més simplificat i que permetin la variació controlada d'un o pocs factors a l'hora.

Són moltes les classificacions dels models animals d'obesitat que s'han fet (Bray i York, 1979; Sclafani, 1984 ; etc). Una de ben general és la que distingeix en primer lloc els models en els que es presenta espontàniament l'obesitat, és dir, es transmet genèticament, i els models obtinguts experimentalment per manipulació dels animals (Trayhurn i James, 1979) Taula 1.

### 2.4.1 Models d'obesitat genètica

La primera descripció d'una forma d'obesitat transmesa genèticament va ser la del ratolí groc (Cuenot, 1905), si bé no s'han realitzat molts estudis sobre aquest model que presenta herència autosòmica dominant. En canvi la majoria d'estudis s'han centrat especialment en els models transmesos per un gen recessiu . Això probablement sigui degut al fet de relacionar la mutació en un sol gen amb el canvi en un sol pèptid o proteïna.

#### a) Ratolí obès (*ob/ob*)

Va ser descrit per primer cop per Ingalls el 1950 (Ingalls i Dickie, 1950) i és deguda a una mutació en el cromosoma 6 (Coleman, 1978). El primer defecte demostrable en aquest animal és una reducció del consum d'oxigen i la caiguda de la temperatura central als 10-18 dies d'edat en ser sotmesos al fred (Boissenault et al., 1976). Aquesta baixa termogènesi pot produir l'augment de mida dels adipòcits observat entre els dies 14-20 (Joosten i Van Der Kroon, 1974), així com l'augment del pes corporal. Quasi simultàniament, augmenta lleugerament la concentració d'insulina circulant i com a conseqüència es produeix hipoglucèmia, això fa que augmentin encara més els nivells d'insulina, portant a una resistència dels teixits a l'acció d'aquesta hormona i per tant a una marcada hiperglucèmia (Bray i York, 1979).

No és fins als 25-28 dies que la seva condició obesa es pugui detectar visualment. Pel que fa a l'ingesta, el consum de llet és normal, però l'ingesta sòlida ja és elevada abans del deslletament (Joosten i Van Der Kroon, 1974). Després del deslletament hi ha un breu període d'hipofàgia però de guany de pes accelerat, que es continua amb l'hiperfàgia que el caracteritza (Lin et al., 1977). Això fa que guanyi pes més ràpidament encara i dipositi greix subcutània i intra-abdominalment , per processos tant d'hipertròfia com d'hiperplàsia.

La deposició de proteïnes està disminuïda a partir de les 3-4 setmanes d'edat,

posteriorment a l'augment dels lípids corporals però abans d'una marcada resistència a l'insulina (Bergen et al., 1975). A partir dels 6 mesos d'edat enlenteixen l'augment de pes, aquest s'estabilitza i fins i tot s'ha descrit una pèrdua de pes i anormalitats en els dents incissius (Batt, 1978).

**Taula 2:** Característiques generals de diferents formes d'obesitat segons el tipus d'herència

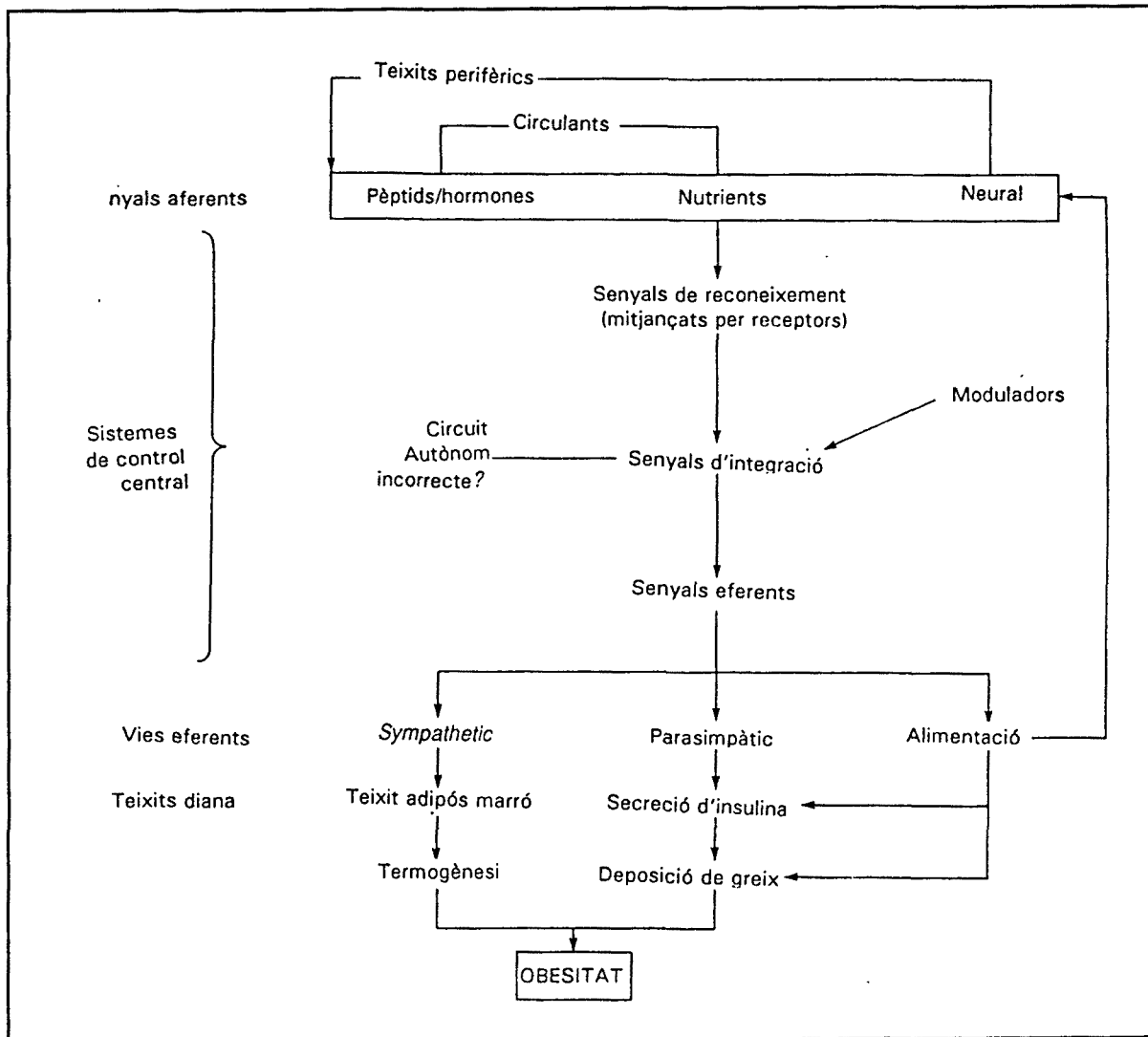
Característica	Modus d'herència		
	Dominant	Recessiva	Poligènica
Obesitat	Moderada	Greu	Variable
Edat manifestació	Post-deslletament	Naixement o dies	2-3 mesos
Creixement lineal	Augmentat	Disminuït	Invariable?
Hiperfàgia	Moderada (no necessària)	Marcada (no necessària)	Variable (canvi de dieta necessari)
Taxa metabòlica	Disminuïda	Disminuïda	Normal o alta
Localització greix	Subcutani o intra-abdominal	Més subcutani intra-abdominal	Obès de Nova Zelanda
Hiperinsulinèmia	Moderada	Greu, primerenca	Moderada i tardana
Diabetis	Moderada	Greu (db/db) Moderada (ob/ob) Absent (fa/fa)	

*b) El ratolí diabètic (db/db)*

El ratolí diabètic (db/db) presenta una gran semblança amb l'anterior i la mutació que l'afecta es localitza al cromosoma 4, presentant nombrosos al·lels (Coleman, 1978).

Als 10-12 dies d'edat, quan ja existeixen dipòsits de greix augmentats, es detecta un petit augment en els nivells d'insulina (Jeanrenaud, 1978). No és fins el deslletament, però quan aquests nivells d'insulina pugen ràpidament (fins arribar a ser 6-10 vegades més alts que els dels seus controls primers), mantenint-se així fins els 2-3 mesos. A partir d'aquest punt el desenvolupament de l'obesitat varia segons la soca concreta que conté la mutació db, així en el cas més greu es manté l'hiperglucèmia però a partir dels 3 mesos baixa ràpidament la insulina, s'atrofien els illots de Langerhans, i l'animal comença a perdre pes fins que mor als 6-8 mesos d'edat (Like i Chick, 1970). També es poden produir problemes renals amb lesions glomerulars a partir del 150 dies d'edat.

La hiperfàgia és posterior al deslletament i no és una condició *sine qua non* per l'expressió de l'obesitat (Cox i Powley, 1977); per tant, es pot associar a una alta eficiència de utilització dels aliments més que no a una reducció en l'activitat locomotora (Yen i Acton, 1972).



**Figura 8:** Possibles llocs d'expressió del defecte genètic. També s'hi mostren algunes interrelacions implicades en el control del balanç energètic en rosegadors.

### c) Rata Zucker (fa/fa)

Aquesta mutació va ser descrita el 1961 per Zucker i Zucker; s'ha pogut ubicar recentment aquesta mutació en el cromosoma 5 (Truett et al., 1991).

Els individus obesos no es detecten visualment fins un mes d'edat, però des del dia 7 ja presenten una mida d'adipòcits gran (Boulangé et al., 1979), mentre que els nivells d'insulina augmenten en el moment del deslletament, afavorint encara més la deposició de lípids promoguda per l'hiperfàgia. Si bé cal remarcar que aquesta hiperfàgia no és

responsable per sí sola de l'obesitat, car estudis d'alimentació de grups aparellats així ho demostren (Pullar i Webster, 1974). L'excés de lípids és dipositat al teixit adipós blanc tant per hiperplàsia com per hipertròfia dels adipòcits, principalment subcutanis i retroperitoneals (Jonhson et al., 1973).

Malgrat ser hiper-insulinèmics, aquests animals mantenen uns nivells de glucosa en sang normals, i mostren una producció de calor alterada, que fa que tinguin una resposta insuficient sota l'exposició al fred (Trayhurn et al., 1976), de manera que sovint moren en condicions de temperatura baixa, perquè no poden mantenir la seva temperatura corporal (Kaul et al., 1985). S'ha descrit que aquest fenomen és conseqüència d'un aparell termogènic incomplet o defectuós (Godbole et al, 1978), tal com s'ha suggerit per altres rossegadors obesos (ratolí ob/ob). També s'ha postulat que no presenten termogènesi induïda per la dieta, fet que implica que depositin una part important de l'energia disponible en forma de greix (Planche et al., 1983). De fet s'han suggerit varis llocs on podria residir el defecte que promou l'obesitat, els més versemblants són: alteracions en una única proteïna (lipoproteïna lipasa, àcid gras sintetasa, etc), la pròpia hiperinsulinèmia, defectes en el control de l'eix hipotàlem-hipòfisi-adrenals. i alteracions en el sistema nerviós central (Krief i Bazin, 1991).

Les rates Zucker fa/fa tenen la capacitat de concentració renal alterada en comparació amb els seus controls prims, canvis que podrien estar relacionats amb la més gran ingesta d'aigua de les rates fa/fa (York i Bray, 1971), si bé això no s'ha pogut demostrar en tots els casos estudiats. Així mateix presenten problemes reproductors, de manera que aproximadament un 80% dels mascles i la totalitat de les femelles amb el genotip fa/fa són estèrils (Krief i Bazin, 1991).

#### *d) Ratolí groc obès*

En aquest cas, el caràcter obès es transmet per un gen d'herència dominant situat al cromosoma 2, estretament lligat al locus agutí (Bateson, 1903), per aquest motiu l'aparició de l'obesitat està associada a canvis en la pigmentació de negre a groc, que permet la seva identificació des del moment d'aparició del pèl. El grau d'obesitat (i de coloració groguenca) depèn de l'al·lel concret, però els homozigots dominants són inviàbles. Desenvolupen una forma moderada d'obesitat i diabetis amb nivells de glucosa normals o lleugerament elevats (Yen et al., 1970), i l'augment de pes no es manifesta fins les 8-12 setmanes (Hellman et al., 1963). S'observa una marcada hipertròfia dels seus adipòcits, però l'hiperplàsia és reduïda (Johnson i Hirsch, 1972). Són incapaços de mantenir una temperatura corporal normal sota els efectes del fred (Turner, 1948), indicant una baixa capacitat termogènica. Són animals més aviat inactius, però el forçar l'exercici no redueix l'obesitat (Stern et al., 1977).

#### *e) Ratolí obès de Nova Zelanda (NZO)*

Malgrat que no es coneix exactament el mecanisme hereditari del ratolí obès NZO, es descriu, des de la seva troballa l'any 1953, com d'herència poligènica (Bielschowski, 1953).



L'obesitat d'aquest rossegador també és moderada, detectant-se un excés de pes cap als 2-3 mesos de vida (Herberg et al., 1970). L'hiperinsulinèmia moderada està acompanyada de resistència a la insulina (Larkins, 1973) i hiperglucèmia.

La hiperfàgia, accentuada en la fase dinàmica de l'obesitat, podria jugar un paper important en el seu desenvolupament, per explicar un balanç energètic positiu, doncs sembla ser que la seva despesa energètica, mesurada com a consum d'oxigen, és més alta que en els seus controls primis (Subrahmanyam, 1960).

#### f) Ratolí japonès (KK)

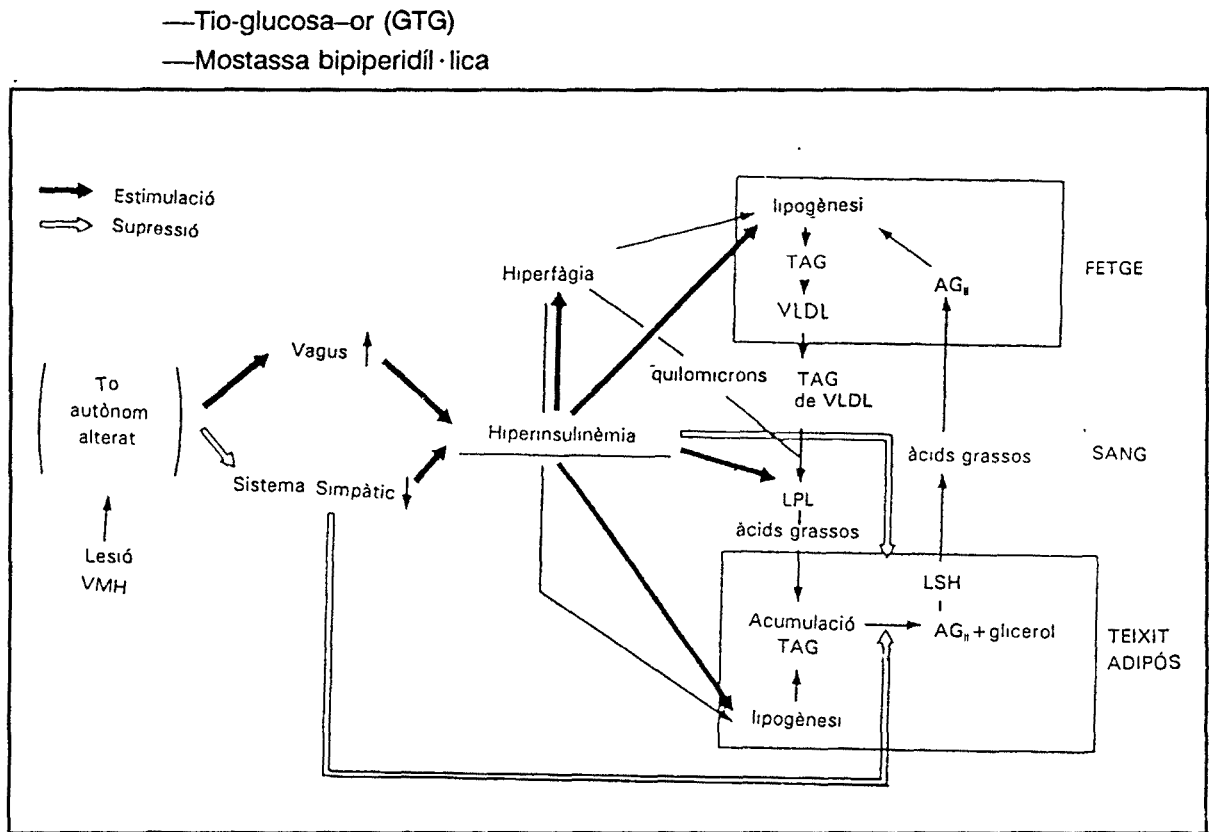
Aquesta soca va ser descrita per primera vegada al Japó (Konello, et al., 1957); el seu tipus d'herència roman encara per aclarir, malgrat que originàriament va ser considerat com un tret d'herència poligènica. Creuat amb el ratolí groc ha donat lloc a una soca híbrida que es coneix com el ratolí KK groc (Iwatsuka et al., 1970). El desenvolupament de l'obesitat en aquest animal és lenta i tardana i de fet només es produeix quan és alimentat amb dietes d'alt contingut calòric (Taketomi et al., 1973), depenent però de la varietat concreta de ratolí.

#### 2.4.2 Models d'obesitat hipotalàmica

La primera descripció d'un problema a nivell d'hipotàlem associat amb obesitat data del 1840 (Mohr, 1840). A començaments d'aquest segle es descriuen altres casos de tumors en la regió hipotalàmica associats a obesitat en humans i també en animals. Smith va ser qui va demostrar (Smith, 1927) que l'extirpació de la hipòfisi no produïa obesitat, mentre que sí la provocaven lesions en l'hipotàlem. Més endavant es va poder concretar que eren les lesions en la regió ventromedial de l'hipotàlem les que desencadenaven la hiperfàgia, hiperinsulinèmia i obesitat d'aquests animals, això va conduir a la teoria dual dels centres de la gana (regió lateral de l'hipotàlem) i de la sacietat (regió ventromedial) (Anand i Brobeck, 1951). Aquesta teoria s'ha fet insostenible amb el temps, per nombroses evidències en contra, com per exemple el fet que animals joves esdevinguin obesos degut a lesions hipotalàmiques, però sense augmentar la ingesta (Bernardis i Goldman, 1976). El que sembla establert és un paper important de l'hipotàlem, probablement a través de feixos de fibres de la regió del nucli para-ventricular (Sclafani i Berner, 1976).

Les tècniques emprades per tal de produir aquestes lesions són de diferents tipus:

- a) Electrolítiques
- b) Per escalfament mitjançant radio-freqüència
- c) Quirúrgiques
- d) Injecció a l'hipotàlem de:
  - Nitroquinolina
  - Glutamat monosòdic (MSG)
  - Tio-glucosa-or (GTG)
- e) Administració per via parenteral de:
  - Glutamat monosòdic (MSG)



**Figura 9:** Esquema per la patogènesi de l'obesitat per lesió a l'àrea ventromedial de l'hipotàlem.

Les característiques concretes dels animals amb lesions hipotalàmiques depenen en gran mesura de l'edat en que s'ha produït la lesió i de la tècnica utilitzada per produir-la. Així es poden trobar augments del doble de la ingesta, o bé no observar-se hiperfàgia, com en el cas d'animals injectats amb MSG (Rabin, 1974). Si la lesió es localitza a l'hipotàlem ventromedial presenten hiperfàgia, però aquesta hiperfàgia no és essencial pel desenvolupament d'aquestes síndromes (Bray, 1987). En canvi, si es localitza al nucli paraventricular, a més de mostrar hiperfàgia, aquesta sembla ser essencial pel desenvolupament de l'obesitat (Bray et al., 1989). També es produeix una alteració en el patró d'alimentació i una reducció en l'activitat física. S'acompanya d'anormalitats en la reproducció, degut a que l'hipotàlem intervé en el control de la funció reproductora.

Aquests animals esdevenen hiper-insulinèmics després de les lesions, i a més, el guany de pes està altament correlacionat amb l'augment del nivell d'insulina per sobre del nivell pre-operatori (Hustvedt i Lovo, 1972). Però aquest fet també es dona si els animals són alimentats com els seus controls aparellats (Martin et al., 1974). Tant la hiperfàgia com el guany de pes es redueixen quan es fan diabètics per extirpació del pàncreas, injeccions d'al·loxana o estreptozotocina (Bray i York, 1979), indicant que la insulina podria jugar un paper important en el desenvolupament de l'obesitat hipotalàmica.

Els nivells globals de glucosa a la sang no estan alterats, però s'han descrit respostes anòmales en certes situacions concretes, com per exemple, que l'augment de

concentració de glucosa que s'observa en les rates normals després d'un àpat, és més baix en les rates lesionades a la regió ventromedial (Steffens, 1969). Presenten hiperlipèmia, tant alimentats amb dieta normal com sota una dieta lliure de greixos (Thomas i Mayer, 1968), amb un augment de la fracció lipoproteica, mentre que la fracció d'àcids grassos lliures pot mantenir-se o no a nivells normals (Bray, 1979). El metabolisme proteic també està alterat, amb un augment del greix corporal a expenses de la fracció proteica, amb una alta utilització d'aminoàcids per la gluconeogènesi, que es reflecteix en els alts nivells d'urea plasmàtica (Goldman i Bernardis, 1976).

#### 2.4.3 Models d'obesitat dietètica

Molts dels intents per induir obesitat en els animals experimentals s'han centrat en fer que aquests animals siguin hiperfàgics, però sovint aquests esforços han topat amb el fort control sobre la ingesta que presenten aquests animals i les nombroses variables que afecten la sobrealimentació (Taula 3).

**Taula 3:** Variables que influeixen la sobrealimentació induïda per la dieta i l'obesitat

De la dieta	Del subjecte	De l'ambient
Composició en nutrients	Edat	Temperatura ambient
Forma física (hidratació)	Soca	Condicions d'estabulació
Olor	Sexe	
Palatabilitat	Diferències individuals	
Varietat	Desordres neurals/endocrins	
Disponibilitat		

Els procediments emprats per a aconseguir forçar aquest control han estat diversos:

a) *Intubació*. Una de les primeres aproximacions per resoldre aquest inconvenient va ser alimentar els animals experimentals per força, mitjançant intubació gàstrica (Cohn i Joseph, 1959), produint-se un considerable augment del contingut de greix corporal. Un cop aturat el tractament, aquests animals esdevenen hipofàgics, perdent pes ràpidament fins retornar a pesos semblants als dels controls.

b) *Dietes riques en greixos*. L'oferiment de dietes amb un alt contingut de lípids provoca hiperfàgia i obesitat (Poole i Stephenson, 1977; Herberg et al., 1974), però el grau d'obesitat aconseguida depèn, en gran mesura, de la soca i edat dels animals utilitzats (Schemmel i Mickelsen, 1974); l'obesitat és reversible quan hom els retorna a la dieta normal.

c) *Dietes de "cafeteria"*. Els intents per influir sobre la ingesta voluntària en la rata mitjançant la seva palatabilitat no havien tingut èxit durant molt de temps. Això va fer suposar que la ingesta d'aliments en aquests animals, a diferència de l'home, no estava influïda per factors tals com el sabor o la varietat. Però això va ser desmentit pels treballs de Sclafani i Springer (1976) en introduir la dieta anomenada de "cafeteria", un règim dietètic no estressant i equilibrat que indueix un excés voluntari en la ingesta. Consisteix en oferir als animals una gran varietat d'aliments consumits normalment per l'home, que són en general rics en lípids i en glúcids.

Amb aquesta dieta s'aconsegueix que els animals ingereixin més energia i augmentin de pes, degut principalment a un augment en el contingut de lípids (Rothwell i Stock, 1979). La naturalesa, varietat i forma de presentació d'aquesta dieta varia segons els autors i pot incloure: formatge, pasta, llet condensada o ensucrada, galetes, pastissos, xocolata, caramels tous, fruites seques, pa, pâté, pernil, embotits, cansalada, plàtans, etc, a més del pinso i l'aigua habituals (Sclafani i Springer, 1976). Si bé la utilització d'aquest tipus de dietes ha estat criticada en nombroses ocasions, sent qualificada *a priori* de deficient (Moore, 1987), s'ha demostrat que malgrat la gran variació en els aliments seleccionats per cada animal, la proporció dels nutrients es manté molt constant (Prats et al., 1989). Per altra banda, com a mesura de precaució en aquest sentit, hom inclou en molts casos un suplement de vitamines i minerals, a part de mantenir també a l'abast dels animals el pinso habitual.

En concret, la composició de la dieta de cafeteria subministrada en els nostres estudis és una versió simplificada de l'estudiada anteriorment al nostre laboratori, estudi en el qual es va determinar quins aliments eren els més consumits pels animals (Prats et al., 1989). De manera que la dieta subministrada finalment estava formada per: cansalada, pâté de fetge de porc, galetes, plàtan, llet ensucrada i enriquida amb un suplement vitamínic i mineral, pinso i aigua.

La reversibilitat d'aquesta obesitat és variable, mentre uns autors descriuen que reverteix en retornar els animals al pinso normal, altres han descrit el contrari, i sembla ser depenent de l'edat, de la soca i fins i tot de la colònia de l'animal (Rothwell i Stock, 1980), ja que mentre que animals joves no guanyen gairebé pes, malgrat presentar ingestes superiors al 50%, els animals vells esdevenen ràpidament obesos i perden poc del pes guanyat en tornar a la dieta de pinso.

## 2.5 Regulació Hormonal

### 2.5.1 Insulina

La majoria de casos d'obesitat en l'home van associats a hiperinsulinèmia (Modan et al., 1985); és a més un tret comú en els models d'obesitat animal, tan genètica com induïda experimentalment, si bé no es coneix exactament el paper que pugui tenir en el desenvolupament de l'obesitat.

L'estudi dels models animals indica que tant la hiperfàgia com la hiperinsulinèmia es

presenten simultàniament en els animals obesos, i es podria pensar que aquesta hipersecreció d'insulina fos una simple conseqüència de la hiperfàgia. Però s'ha observat que la hiperinsulinèmia també és present en casos en que no hi ha hiperfàgia, com per exemple en animals joves lesionats electrolíticament a l'hipotàlem (Assimacopoulos i Jeanrenaud, 1976) o bé evitant la hiperfàgia mitjançant la restricció d'aliments (York i Bray, 1973). Més encara, la prevenció de la hiperinsulinèmia en rates Zucker fa/fa no evita el desenvolupament de l'obesitat (Chan i Stern, 1982).

En l'estat dinàmic de l'obesitat, els teixits diana de l'insulina ja es troben sobreestimulats en estat basal, i poden ser-ho encara més per efecte dels increments d'insulina. Aquesta fase es caracteritza, en general, per una hipoglucèmia i per una tolerància normal als glúcids (Coleman i Hummel, 1974). En canvi en la fase estàtica, la sobre-estimulació persistent fa que els teixits esdevinguin resistents a la insulina.

La hiperinsulinèmia podria tenir origen hipotalàmic, doncs es produeix una hipersecreció de l'hormona després de la destrucció electrolítica de la regió ventromedial de l'hipotàlem (Hustvedt i Lovo, 1972).

### 2.5.2 *Glucocorticoides*

El desenvolupament o progressió de l'obesitat experimental és revertida o atenuada per l'adrenalectomia (Bray, 1982). El fet que la majoria de defectes característics de l'obesitat genètica siguin revertits per l'adrenalectomia, suggereix que els glucocorticoides poden jugar un paper clau en el desenvolupament de l'obesitat (Bray, 1990).

Sembla que després de l'adrenalectomia, a més de normalitzar-se el nivell d'ingesta també ho fan els patrons d'alimentació (Saito i Bray, 1984) i la despesa energètica (York, et al., 1985). També baixen els nivells d'insulina (Bailey et al., 1986) i millora la resistència del múscul a la insulina (Ohshima et al., 1982), entre d'altres.

Aquests efectes podrien estar mediatitzats per l'augment del CRF (hormona alliberadora de corticotropina) circulant provocat per l'adrenalectomia, ja que aquest factor hipotalàmic promou l'augment de la ingesta energètica (Bray i York, 1979) i dels nivells circulants de noradrenalina (Brown, et al., 1982).

### 2.5.3 *Hormona del creixement*

La deficiència en GH (hormona del creixement) està associada a un augment del contingut de greix corporal. Quan els individus afectats reben dosis repetides de l'hormona, el greix corporal es redueix significativament (Bray, 1989). En l'edat adulta declina la secreció d'aquesta hormona, coincidint amb un augment dels dipòsits de greix corporal, encara que el pes corporal no canviï (Forbes i Reina, 1970).

Els nivells en sèrum d'aquesta hormona en l'obesitat són normals en el ratolí ob/ob, però són més baixos en la rata fa/fa (Martin i Wangness, 1978). Per altra banda l'extirpació

de la hipòfisi atura la progressió de l'obesitat, tant en el ratolí ob/ob (Herbai, 1970) com en la rata fa/fa (Powley i Opsahl, 1974), però no en els animals lesionats a la regió ventromedial de l'hipotàlem (York i Bray, 1972). L'efecte de l'hipofisectomia —quan té efectes— podria ser deguda a la manca d'ACTH (corticotropina) que això suposa, i per tant tindria un efecte semblant al de l'adrenalectomia.

#### 2.5.4 Hormones tiroïdees

Les hormones tiroïdees són secretades per la glàndula tiroides essencialment com a tiroxina ( $T_4$ ), la qual és convertida a una forma biològicament més potent, que és la triiodotironina ( $T_3$ ), per acció de la 5'desiodasa dels teixits perifèrics.

Hom associa l'hipotiroïdisme amb una reduïda taxa metabòlica i amb un augment del greix corporal, mentre que l'hipertiroïdisme va lligat —contràriament— a un augment de la taxa metabòlica i a la reducció del greix corporal (Bray i Campfield, 1975). Per altra banda s'ha observat que els ratolins tractats amb tiroxina incrementen la seva ingesta després d'un període de latència de tres o quatre dies, i que si s'els permet seleccionar la dieta trien relativament més midons que altres nutrients (Donhoffer i Vonotzky, 1947).

#### 2.5.5 Hormones sexuals

S'observa una tendència de distribució específica dels emmagatzemaments lipídics segons el sexe, tal com s'ha comentat en l'apartat 2.3.1 c. Aquest fet podria explicar-se per l'acció diferencial de les hormones sexuals. Així les dones joves presenten adipòcits més grans i amb una activitat lipoproteïna lipasa més alta en la regió dels malucs, que desapareix amb la menopausa, però que sembla poder-se reconstituir amb una teràpia de substitució amb hormones sexuals femenines, i en particular de progesterona (Rebbufé-Scrive, 1987). A més a més, aquesta regió mostra una resposta als estímuls lipolítics molt pobre, indicant una baixa mobilització dels lípids d'aquesta zona. Però aquestes activitats canvien durant la gestació i l'al·letament, afavorint-se la mobilització de lípids i disminuint l'activitat de la lipoproteïna lipasa. Aquestes respostes suggereixen una funció específica per a aquest dipòsit de greix, que seria la d'acumular energia addicional per fer front a les necessitats energètiques del final de la gestació i de l'al·letament (Björntorp, 1989).

Per alta banda, en rates femelles la castració indueix obesitat, la qual és revertida per l'adrenalectomia (Schemmel et al., 1982), però no per la vagotomia (Eng i Gold, 1979), a diferència de l'obesitat hipotalàmica.

Els andrògens actuen de diferent forma, de manera que la testosterona, un dels andrògens més potents, provoca un augment de la ingesta i del teixit magre, així com una pèrdua de greix en rates deslletades (Nunez i Grundman, 1982). En l'home, s'ha descrit una sensibilitat lipolítica dels adipòcits abdominals, típics d'una distribució androide, basada en un nombre de receptors  $\beta$ -adrenèrgics més gran (Rebbufé-Scrive et al., 1989), tret que podria estar induït per la testosterona (Björntorp, 1989).

## 2.6 Metabolisme: alteracions

Com hem vist en l'apartat anterior, en l'obesitat, l'ambient hormonal presenta una sèrie de característiques que evidentment condicionen l'existència d'una sèrie d'anomalies en el metabolisme dels animals que la presenten. A continuació s'exposen algunes de les alteracions metabòliques més rellevants de l'obesitat, centrant-nos en els models més estudiats: el ratolí ob/ob, el ratolí db/db i la rata fa/fa.

### 2.6.1 Metabolisme glucídic

Els nivells de glucosa circulant solen ser elevats en la majoria de casos d'obesitat, però hi ha excepcions, així la rata Zucker fa/fa és normo-glucèmica, a pesar de la seva hiperinsulinèmia. El mateix es pot dir en l'obesitat d'origen hipotalàmic.

En el ratolí ob/ob, la taxa gluconeogènica és alta (Willms et al., 1970), probablement com a resultat de l'estimulació pels glucocorticoides, la qual aporta més glucosa pel manteniment de la hiperglucèmia. En el mateix sentit actuaria l'accelerat recanvi del glicogen hepàtic (Elliot et al, 1971). En el ratolí diabètic (db/db), la hiperglucèmia acaba provocant glucosúria, poliúria i polidipsia, però no arriba a ocasionar les complicacions vasculars i retinals típiques de la diabetis humana (Like et al., 1972).

### 2.6.2 Metabolisme lipídic

a) *Lipogènesi*. És raonable suposar que l'augment en el contingut de lípids que comporta l'obesitat sigui degut, a més de la deposició dels lípids ingerits amb la dieta, a una elevada síntesi *de novo*. De fet s'ha demostrat tant *in vivo* com *in vitro* una alta síntesi d'àcids grassos en el teixit adipós i el fetge del ratolí ob/ob (Yen et al., 1972), però principalment en el teixit adipós (Hems et al., 1975). En canvi en la rata fa/fa s'ha descrit que és principalment el fetge el responsable principal de la síntesi d'àcids grassos (Godbole et al., 1978). Cal destacar també que el deslletament proporciona un senyal important per l'augment de la lipogènesi, ja que aquests animals presenten una lipogènesi normal durant el període d'alletament (Godbole i York, 1978). Per altra banda, dietes riques en lípids inhibeixen, en general, aquesta marcada lipogènesi (Lemonnier, 1974).

Tots els enzims de la via lipolítica mostren activitats incrementades en el teixit adipós blanc i el fetge, però principalment l'acetil-CoA carboxilasa i el complex àcid gras sintetasa (Volpe i Marasa, 1975). Els àcids grassos són esterificats, principalment al fetge, provocant una alta secreció de lipoproteïnes cap a la circulació. Aquest flux és compensat però, en el ratolí ob/ob, per un augment en l'activitat lipoproteïna lipasa del teixit adipós blanc, cor i múscul esquelètic (De Gasquet, 1972). En canvi, el ratolí db/db presenta hiper-triacil-glicerolèmia i hiper-colesterolèmia (Tuman i Doisy, 1977), de manera similar a la rata Zucker. Diversos estudis apunten a que és la hiperinsulinèmia la responsable directa de la hiper-

lipogènesi, ja que per exemple el tractament amb estreptozotocina inhibeix la lipogènesi en ratolins ob/ob, arribant a valors propers als dels ratolins prims (Loten et al., 1976).

En general, podem dir que l'elevada activitat lipoproteïna lipasa, juntament amb la hiper-lipogènesi, poden ser de cabdal importància per entendre la hiperplàsia del teixit adipós en aquests animals.

b) *Lipòlisi*. Els defectes lipolítics que han estat identificats en el teixit adipós blanc del ratolí ob/ob semblen ésser de menor importància per al desenvolupament de l'obesitat, destacant l'augment en la concentració i velocitat de recanvi del glicerol circulant (Elliot et al., 1976). Mentre la concentració d'àcids grassos lliures és normal o lleugerament elevada en el ratolí ob/ob, és més alta en el ratolí db/db (Steinmetz et al., 1969) i la rata fa/fa que en els seus controls prims.

### 2.6.3 *Metabolisme proteic*

El ratolí ob/ob mostra una certa incapacitat per arribar a dipositar quantitats normals de proteïna muscular, fins el punt que a partir dels sis mesos d'edat s'atura el guany de pes i/o comença a perdre pes (Batt, 1978). En la rata Zucker la deposició proteica s'ha descrit com a normal durant el primer mes de vida, quan les diferències de pes corporal es deuen principalment a l'augment de deposició de greix, però a partir d'aquesta edat hi ha una reducció relativa de la deposició de proteïnes, més marcada en els mascles (Radcliffe i Webster, 1976). Alguns autors suggereixen que les taxes absolutes de síntesi proteica són menors en la rata fa/fa en comparació als seus controls prims, però que les de degradació són similars (Chan, 1985).



### 3. CALORIMETRIA

La calorimetria és la mesura de la producció de calor. Donada la importància que té l'alliberament de calor en el balanç energètic, són molts els intents que s'han realitzat per tal de mesurar-la, i el desenvolupament recent de noves tecnologies ha millorat la nostra capacitat per estudiar aquest recanvi energètic.

#### 3.1 Equació del balanç de calor

Per un individu en repòs, l'equació del balanç de calor és (Jéquier et al., 1987):

$$M = (R + C + K + E) + T$$

On M és la producció de calor pel propi metabolisme,

R és el calor alliberat per radiació,

C és el calor alliberat per convecció,

K és el calor alliberat per conducció,

E és el calor alliberat per evapo-transpiració, i

T és el calor emmagatzemat al cos.

El terme M és el que es pretén mesurar mitjançant la calorimetria indirecta, que inclou tots aquells mètodes que no mesuren la calor com a tal, sinó que l'estimen a partir de mesures d'altres paràmetres que es relacionen amb aquesta, i representa la taxa de producció de calor per l'organisme. Les reaccions metabòliques implicades en l'alliberament de l'energia lliure dels substrats oxidats està acoblada a la síntesi d'ATP, i és en aquesta forma que l'energia es fa disponible pel manteniment del metabolisme. Aproximadament, una tercera part de l'energia dels nutrients es perd en forma de calor al sintetitzar-se l'ATP, i dues terceres parts de l'energia són alliberades en la hidròlisi de l'ATP (Flatt et al., 1984). Per tant, tota l'energia serà eventualment transformada en calor.

Els paràmetres inclosos dins el parèntesi (R, C, K i E) són els mesurats per la calorimetria directa. La taxa d'emmagatzemament de calor, T, pot ser positiva, quan hi ha un guany net de calor, amb l'augment de la temperatura corporal, o bé negativa, quan es produeix un refredament del cos. Quant al paràmetre E roman en controvèrsia si és mesurat o no en la calorimetria directa; així Mount (1978), postula que aquesta calor no es pot incloure en la mesura, mentre que d'altres mantenen la conveniència de mesurar les diferències de pressió de vapor d'aigua entre l'entrada i la sortida d'aire, així com el seu flux (Jéquier, 1987).

#### 3.2 Calorimetria directa

##### 3.2.1 Precedents

La mesura de l'alliberament de calor pels animals té els seus inicis quan Crawford a Glasgow i Lavoisier a Paris, van fer els primers intents fa uns 200 anys. Crawford va mesurar l'augment de



temperatura de l'aigua que contenien les parets d'una cambra on es mantenia l'animal, mentre que Lavoisier va mesurar la quantitat de gel fos dins d'una cambra aïllada que contenia el gel i l'animal (McLean, 1987). Posteriorment, la formulació, per Mayer l'any 1842, del Principi de conservació de l'energia segons el qual "l'energia no es crea ni es destrueix, sinó que simplement es transforma", coneguda com a Primera llei de la Termodinàmica, va permetre l'enunciat de l'equació del balanç energètic (apartat 3.1), així com l'equació del balanç de calor, exposada en l'apartat anterior.

### 3.2.2 Tipus d'aparells calorimètrics (directes)

Actualment s'utilitzen diferents tipus de calorímetres, que podem agrupar de la següent manera:

a) calorímetres adiabàtics:

- Heat-sink
- De convecció
- Diferencials

b) calorímetres de gradient

a) *Calorímetres adiabàtics*. Els calorímetres adiabàtics són aquells en els que les pèrdues de calor pel cos es mesuren extraient la calor mitjançant diferents sistemes i impedit les pèrdues a través de les superfícies de les cambres que contenen l'organisme, per aquest motiu també es coneixen com calorímetres isotèrmics.

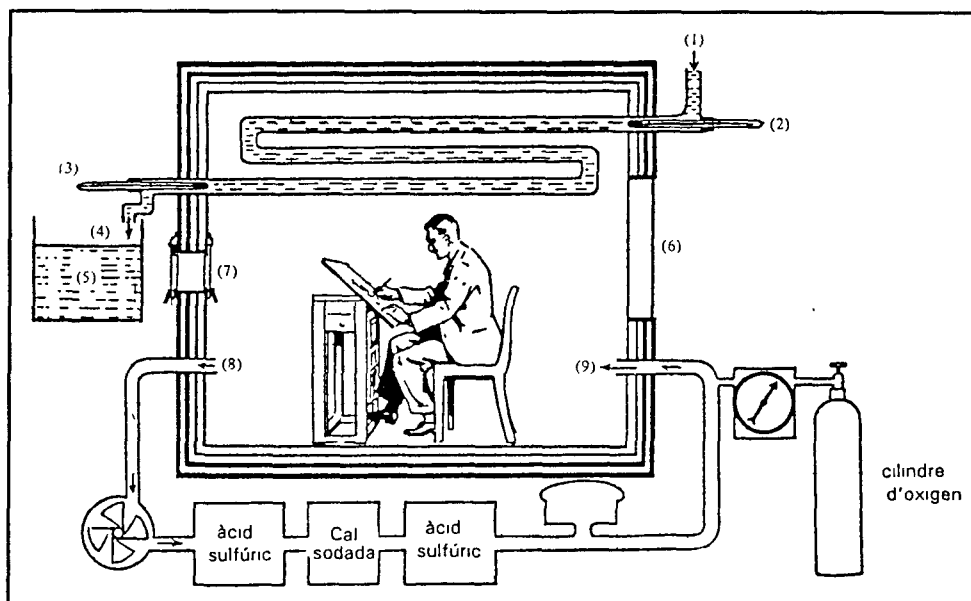
—*Heat-sink*: Els primers en ser construïts van ser el d'Atwater i Rosa, 1899 i el de Atwater i Benedict, 1904 (Figura 11). Bàsicament consisteixen en una cambra de parets aïllants, de la qual s'extreu la calor mitjançant un bescanviador de calor, generalment aigua freda, que circula per conductes, calculant-se la calor alliberada per l'animal a partir de l'augment de temperatura d'aquesta aigua.

Un tipus diferent de calorímetre, però que també utilitza el mateix principi, és el "calorímetre de vestit", descrit per Webb et al. (1972). Breument, consisteix en una espècie de xarxa de tubs a través dels quals circula l'aigua, i que s'ajusten al cos com una mena de vestit.

—*De convecció*: També anomenats calorímetres d'aire, ja que es basen en la mesura de l'augment de temperatura de l'aire que es fa circular per l'interior de la cambra.

—*Diferencials*: En aquest cas existeixen dues cambres idèntiques, una que conté l'animal que produeix un augment de la temperatura en la cambra, i l'altra que conté una font artificial de calor, que s'ajusta perquè produeixi un augment idèntic de temperatura que la cambra que conté l'animal, mesurant-se doncs, la quantitat de calor utilitzada per la font artificial de calor.

b) *Calorímetres de gradient*. El principi dels calorímetres de gradient va ser descrit per Benzinger i Kitzinger (1949). Consisteix en la mesura precisa de la diferència de temperatura entre



**Figura 11:** Calorímetre d'Atwater i Benedict. Les parets de la cambra estan aïllades, però té una finestreta (7) i una porta (6) que dona accés a la cambra. Les mesures calorimètriques directes es realitzen pel sistema representat de (1) a (5). L'aigua entra a través de (1) i surt per (4), la quantitat d'aigua que flueix a través del sistema es determina recollint-la en un dipòsit (5). El canvi de temperatura de l'aigua es determina mesurant la temperatura a l'entrada i a la sortida mitjançant termòmetres a (2) i (3). El mateix aparell inclou un sistema per realitzar mesures de calorimetria indirecta (de (8) a (9)), de circuit tancat, amb un sistema d'extracció del  $\text{CO}_2$  format i amb reposició del  $\text{O}_2$  consumit.

les dues superfícies d'una làmina de material aïllant que envolta el calorímetre. La pèrdua de calor es pot quantificar a partir del gruix, la conductivitat tèrmica de les parets i la seva superfície total. En general tenen una resposta més ràpida que els calorímetres adiabàtics, però són més complexes i tenen un cost més elevat (Stock i Rothwell, 1982).

### 3.2.3 Característiques del calorímetre (directe) emprat

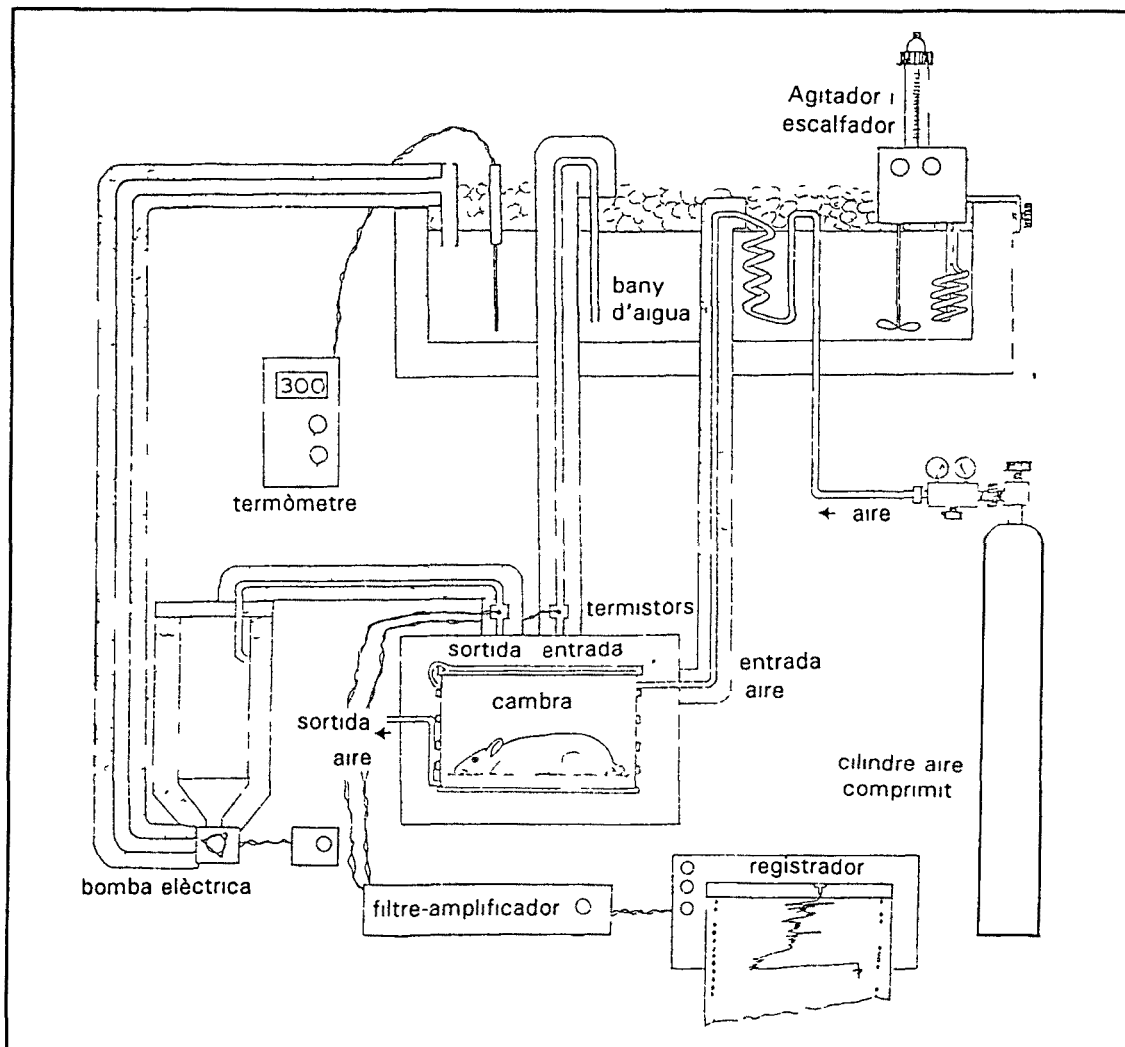
Els calorímetres emprats en la realització d'aquest treball són del tipus adiabàtic, en concret de *heat sink* o sumidor de calor. Aquest aparell inicialment utilitzat, comptava amb una sortida analògica de les dades obtingudes i constava d'una sola cambra (Figura 10). Posteriorment, i agafant aquest de model, es va construir un calorímetre de sis cambres en el qual les dades són captades i emmagatzemades en un ordinador. Això ens va permetre poder realitzar fins a sis mesures simultànies i obtenir un grau més alt de precisió en aquestes mesures.

## 3.3 Calorimetria indirecta

### 3.3.1 Precedents

Va ser el mateix Lavoisier qui va descriure a mitjans de segle XVIII, posteriorment a que Boyle i altres identifiquessin l'aire com a necessari per mantenir tant la vida animal com la flama d'una espelma, que en aquests processos es consumia un producte que va anomenar oxigen i es que

produïa diòxid de carboni. També va establir la relació amb la quantitat de calor alliberada per un animal (McLean i Tobin, 1977).



**Figura 12:** Esquema bàsic de l'aparell calorimètric utilitzat en aquest treball. Consta bàsicament de sis elements: 1) la cambra, 2) el sistema de detecció dels canvis de temperatura (termistors), 3) aparell de recollida de dades (registrador), 4) el sistema de circulació d'aigua, 5) el sistema de circulació d'aire i 6) el dipòsit d'aigua o sumidor de calor.

A partir d'aquí els esdeveniments es van anar succeint de la següent manera:

- 1824 (Despretz) i 1841 (Dulong-Petit) construeixen la primera cambra respiromètrica.
- 1849, Regnault i Reiset descriuen el primer sistema de circuit tancat per mesurar els gasos respirats.
- 1862, Pettenkofer i Voit descriuen el primer sistema de circuit obert.
- 1898, les mesures es realitzaven per mètodes químics (Haldane).
- 1905, Atwater i Benedict milloren el sistema de circuit tancat (Figura 11).
- Els grans avenços en electrònica i instrumentació fets durant la II Guerra Mundial van transformar la pràctica de la calorimetria, amb mètodes electrònics d'anàlisi de gasos, sistemes de control automàtic, captura i processament de les dades per ordinador, etc;

- malgrat que els principis bàsics de calorimetria utilitzats són els mateixos de fa cent anys.
- Es desenvolupen sistemes portables, com la motxilla de Douglas, de circuit tancat (1911), o el respiròmetre Kofranyi- Michaelis (1940), de circuit obert.
  - 1976, Eley et al. descriuen el MISER, acrònim dels mots anglesos: *miniature, indicating, sampling, electronic respirometer*.
  - I Humphrey i Wolff (1977) l'Oxylog.

### 3.3.2 Bases teòriques de la calorimetria indirecta d'anàlisi de gasos

Sempre i quan hom no indiqui el contrari, quan es parla de calorimetria indirecta es fa referència a la que es basa en l'anàlisi del oxigen consumit i del diòxid de carboni produït per l'organisme.

Una de les finalitats principals del metabolisme dels nutrients és produir energia, i la via més comú d'extreure l'energia química d'un substrat és oxidar-lo completament fins a diòxid de carboni i aigua. Per tant, la via final comú dels combustibles cel·lulars: glúcids, lípids i proteïnes, és l'oxidació. L'energia química d'aquests substrats oxidats és transferida a compostos (principalment ATP) que la fan arribar allà on calgui, per tal de realitzar un treball, que pot ser, entre d'altres, químic (biosíntesi), osmòtic (transport actiu) o mecànic (contracció muscular).

Totes les reaccions que donen energia, però, tenen una eficiència inferior al 100%, ja que segons el Segon Principi de la Termodinàmica, qualsevol canvi en el contingut total d'energia d'un sistema provoca un canvi en l'energia lliure i l'entropia del sistema; com només l'energia dels substrats pot ser utilitzada per realitzar un treball, una part es perd en forma d'entropia. Però com que eventualment tota l'energia serà convertida en calor, la mesura de la quantitat de substrats oxidats, o indirectament de l'oxigen utilitzat per oxidar-los, serà una mesura indirecta de la quantitat de calor produïda per l'organisme.

SEGON PRINCIPI DE LA TERMODINÀMICA:  $\Delta H = \Delta G + T\Delta S$

On H = Entalpia o contingut d'energia total d'un sistema

G = Energia lliure de Gibbs, energia utilitzable per realitzar un treball.

S = Entropia o grau de desordre del sistema, no disponible per realitzar un treball.

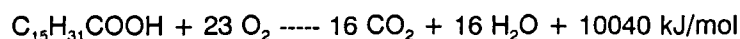
T = temperatura.

Per trobar la relació entre l'oxigen consumit (i el CO<sub>2</sub> produït) i la producció de calor cal tenir en compte l'estequiometria de les reaccions d'oxidació i els equivalents calòrics dels combustibles utilitzats.

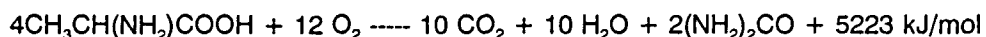
\* GLÚCIDS (per exemple glucosa):



\* LÍPIDS (per exemple àcid palmític):



\* PROTEÏNES (per exemple alanina):



Cal destacar que les proteïnes no poden ser totalment oxidades a diòxid de carboni i aigua, sinó que el seu nitrogen és excretat principalment en forma d'urea, compost que encara es pot oxidar, és a dir, encara conté energia. Així la quantitat de proteïna oxidada s'obté usualment a través de la mesura de la quantitat de nitrogen excretat per orina —considerant l'equivalència de 1 g N i 6.25 g de proteïna (Kleiber, 1961), (Dargol'tz, 1973)—, i en la reacció ja s'ha tingut en compte aquest fet. De tota manera és freqüent utilitzar una forma alternativa de fer aquests càlculs, que consisteix en descomptar el  $O_2$  i  $CO_2$  implicats en l'oxidació de les proteïnes, i del que queda mirar en taules a quins valors corresponen.

Dels valors de producció de diòxid de carboni i consum d'oxigen s'en deriva l'anomenat quocient respiratori (QR), l'única variable que no depèn de cap valor assumit sinó que és funció directa de les quantitats mesurades. De les equacions anteriors s'en deriva que el QR per la glucosa (i pràcticament pels glúcids en general) és de 1.0, per l'àcid palmític 0.7 i per l'alanina 0.8, si bé cal tenir en compte que aquests valors poden variar segons el compost concret utilitzat. Per altra banda el QR per si sol només ens dona indicacions qualitatives, i sovint és difícil d'interpretar (Ferrannini, 1988).

De les reaccions anteriors s'en poden deduir equacions que ens permeten calcular la producció de calor. Una de les més utilitzades és la proposada per Weir (1949):

$$M \text{ (kJ)} = 16.50 \times VO_2 + 4.63 \times VCO_2 - 9.08 \times N$$

On  $VO_2$  és el volum d'oxigen consumit (l),  $VCO_2$  el volum de diòxid de carboni produït (l) i N la quantitat de nitrogen excretat per orina (mg).

Més recentment altres autors, com Brouwer (1965) o Ferrannini (1988) n'han proposades d'altres de similars, així com equacions que ens permeten conèixer la quantitat de lípids i/o glúcids oxidats (o sintetitzats si el resultat és negatiu). Així, a títol d'exemple, es presenten les de Ferrannini (1988):

—Lípids oxidats (L) en g/min

$$L = 1.67 \times (VO_2 - VCO_2) - 1.92 \times N$$

—Glúcids oxidats (G) en g/min

$$G = 4.55 \times VCO_2 - 3.21 \times VO_2 - 2.87 \times N$$

On L i G són els grams de lípid i glúcid sintetitzat per unitat de temps i  $VCO_2$  i  $VO_2$  el volum diòxid de carbònic i oxigen, produït i consumit respectivament.

El grau de precisió d'aquestes fórmules vindrà donat per la coincidència dels substrats utilitzats per deduir-les amb els substrats realment oxidats per l'organisme en el cas concret estudiat, a més de l'exactitud i rellevància de les mesures. En general s'utilitzen substrats representatius, que varien, però, segons l'autor, així com també varien lleugerament els valors de calor de combustió considerats. La Taula 3 és un recull no exhaustiu de factors calorífics i valors de consum d'oxigen utilitzats per diferents autors.

**Taula 3:** Factors calorífics, consum d'oxigen i QR segons diferents autors.

material	autor	calor de combustió (kJ/g)	oxigen consumit (l/g)	quocient respiratori QR
midó	Magnus-Levi (1907)	17,2	0,829	1,00
	Lusk (1928)	17,51	0,8288	1,00
	Brouwer (1965)	17,6	0,829	1,00
lípid	Magnus-Levi (1907)	38,9	2,019	0,71
	Lusk (1928)	39,60	2,0193	0,707
	Brouwer (1965)	39,8	2,013	0,711
	Ferrannini (1988)	39,78		0,695
proteïnes	Magnus-Levi (1907)	—	6,030	0,81
	Lusk (1928)	—	5,940	0,802
	Brouwer (1965)	—	5,98	0,809
	Ferrannini (1988)	17,15	—	0,807

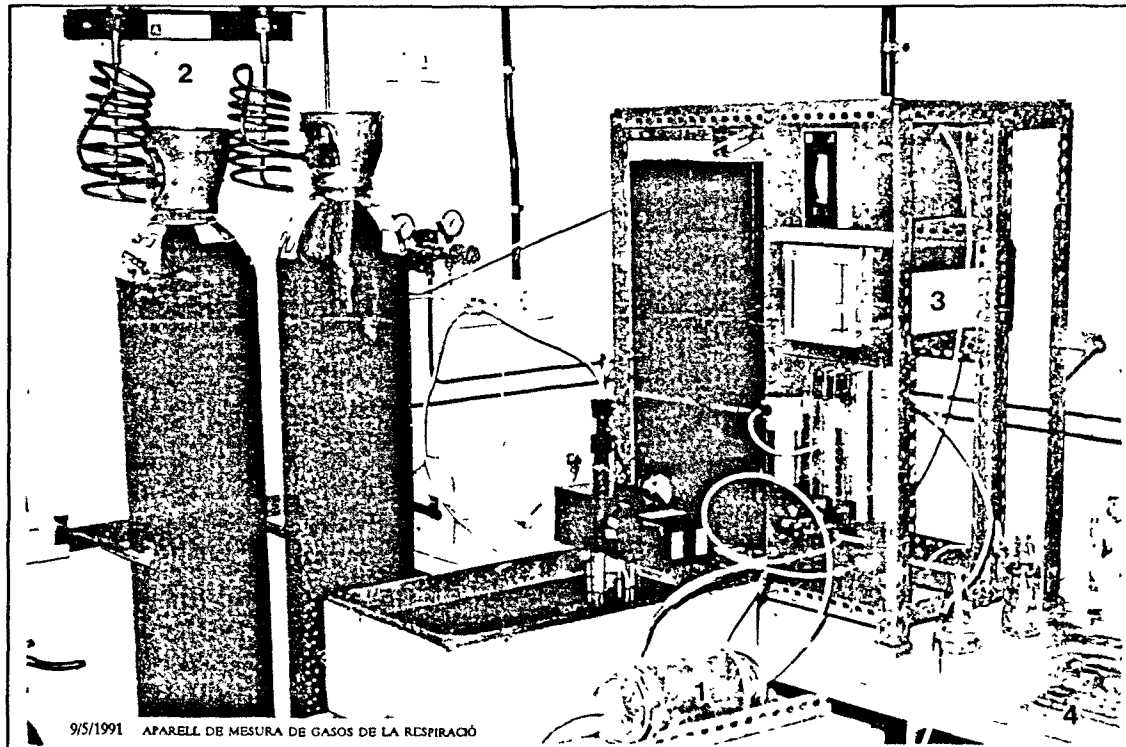
### 3.3.3 Aparells d'anàlisi de gasos

Els primers sistemes utilitzats es basaven en anàlisis de gasos de tipus químic (Haldane, 1898; Scholander, 1947), però avui en dia es tendeix a utilitzar analitzadors basats en principis físics, per la seva comoditat i immediatesa de lectura.

Així un dels millors sistemes de mesura de la concentració d'oxigen en gasos s'aconsegueix amb els analitzadors paramagnètics d'oxigen. Es basen en la propietat de la molècula d'oxigen de ser atreta per un camp magnètic; a diferència d'altres, com les de diòxid de carboni o nitrogen que són repelides i que anomenem diamagnètiques.

L'anàlisi de diòxid de carboni o aigua es pot realitzar molt efectivament mitjançant detectors d'absorció de la llum infra-roja, ja que ambdós absorbeixen llum en aquesta zona de l'espectre, a diferència de l'oxigen i el nitrogen que no ho fan. Consisteixen en la mesura contínua de l'absorció

de llum infra-roja de longitud d'ona adequada el diòxid de carboni o per l'aigua quan el gas passa a través d'una cèl·lula d'absorció fins un detector. A la Figura 13 es pot observar l'aspecte del calorímetre d'anàlisi de gasos utilitzat en aquest treball.



**Figura 13:** Aparell calorimètric per a realitzar mesures de calorimetria indirecte utilitzat en aquest treball. Consta de quatre parts bàsiques: 1) La cambra on es manté l'animal, 2) el sistema d'aportació de gasos, 3) els detectors i 4) el sistema informatitzat de recollida de dades. Per tal de mantenir l'animal en condicions de temperatura controlada, la cambra es col·locava dins d'un bany termostatitzat (o dins d'una cambra freda en el cas de temperatures inferiors a les ambientals). El subministrament de gasos es realitzava mitjançant un cilindre d'aire comprimit, així mateix es disposava de ciclindres d'aire de composició coneguda que s'utilitzaven com a patró de calibració. L'aire passava per un aparell de mesura de flux abans d'entrar a la cambra. A la sortida de la mateixa es tornava a mesurar el flux d'aire i aquest passava per un filtre abans d'arribar als detectors. El sistema de detecció consta d'un detector paramagnètic per l'oxigen i dos detectors d'infra-roig, un per l'aigua i l'altre pel diòxid de carboni (Leeds & Northrup). La captura de dades es realitza mitjançant una targeta RTI-800, connectada a un ordinador que processa les dades mitjançant un programa en BASIC que nosaltres mateixos vam realitzar i comprovar.

### 3.3.4 Altres tipus de calorimetria indirecta

Els sistemes descrits anteriorment impliquen un cert grau de restricció en la llibertat de moviments del subjecte experimental, sobre tot en el cas de l'home. Aquest contratemps s'ha intentat resoldre mitjançant la utilització de sistemes portàtils, amb peces que s'ajusten a la boca, o bé amb màscares, que permeten efectuar les mesures sota condicions de vida pràcticament normals. Però aquests sistemes es fan difícils d'aplicar en el cas dels animals, és per això que s'han buscat altres mètodes no invasius que facin una estima del intercanvi de gasos o que es correlacionin amb la producció de calor.



a) *Marcatge amb  $^{14}\text{C}$* . Consisteix en infondre bicarbonat sòdic marcat amb  $^{14}\text{C}$  i mesurar la taxa d'eliminació d'aquest en forma de  $\text{CO}_2$ , segons l'activitat específica del diòxid de carboni en els fluids corporals (Young, 1967).

b) *Aigua doblement marcada*. Aquesta tècnica va ser suggerida per primera vegada per Lifson et al. (1955). Es basa en que l'oxigen utilitzat pels organismes és eliminat en forma de  $\text{CO}_2$  i de  $\text{H}_2\text{O}$  i que en canvi l'hidrogen només és eliminat en forma de  $\text{H}_2\text{O}$ . La taxa de recanvi de l'oxigen és, per tant, més ràpida que la del hidrogen, sent la diferència de recanvi entre ambdós la mesura de la taxa de producció de  $\text{CO}_2$ . De tota manera és una tècnica amb un cost econòmic elevat, sobre tot per animals grans, com l'home. Sembla que en un futur immediat aquesta dificultat podrà ser superada per la utilització d'espectròmetres de masses, que permeten reduir la dosi dels isòtops administrats.

c) Mesures que es correlacionen amb la *producció de calor*.

1. *Taxa cardíaca*: la correlació amb la producció de calor és suficient per les finalitats predictives, però presenta moltes limitacions (Yamamoto i Ogura, 1985)

2. *Registres d'activitat*: consisteixen en anotar les diferents activitats realitzades, així com el temps invertit en cada una d'elles. La despesa energètica es calcula utilitzant valors predeterminats per cada tipus d'activitat (Durning i Passmore, 1967)

d) *Mesura del balanç energètic*: si mesurem l'aportació d'energia metabolitzable a l'organisme i d'aquesta energia ingerida en restem la quantitat dipositada a l'organisme, la resta serà l'energia que s'ha de dissipar en forma de calor. Es un mètode laboriós, només aplicable quan es pot quantificar acuradament l'energia dipositada en l'organisme en el període de temps estudiat, és a dir, quan podem conèixer la composició corporal (Prats et al., 1989)



## BIBLIOGRAFIA

- Alemaný, M.: The etiologic basis for the classification of obesity. *Prog. Food Nutr. Sci.* 13, 45-66 (1989)
- Alemaný, M. & Remesar, X.: Desarrollo posnatal de la obesidad y otras alteraciones del control del peso corporal. *Med. Clin. Barc.* 97, 190-196 (1991)
- Alexander, G. & Bell, A.W.: *Biol. Neonate* 26, 214-220 (1975)
- Anand, B.K., Brobeck, J.R.: Hypothalamic control of food intake in rats and cats. *Yale J. Biol. Med.* 24, 123-146 (1951)
- Andersen, T., Astrup, A. & Quaade, F.: Dexfenfluramine as adjuvant to a low calorie formula diet in the treatment of obesity: a randomized clinical trial. *Int. J. Obes.* 16, 35-40 (1992)
- Aquila, H., Link, T.A. & Klingenberg, M.: The uncoupling protein from brown fat mitochondria is related to the mitochondrial ADP/ATP carrier. Analysis of sequence homologies and of folding of the protein in the membrane. *EMBO J.* 4, 2369- 2380 (1985)
- Assimacopoulos-Jeannet, F. & Jeanrenaud, B.: The hormonal and metabolic basis of experimental obesity. *Clin. Endocrinol. Metab.* 5, 337-365 (1976)
- Atwater, W.O. & Rosa, E.B.: Description of a new respiration calorimeter and experiments on the conservation of energy in the human body. *Bull. U.S. Dep. Agriculture* 63 (1899)
- Atwater, W.O. & Benedict, F.G.: A respiration calorimeter with appliances for the direct determination of oxygen. *Publ. Carnegie Inst. Washington* 42 (1905)
- Babirak, S.P., Dowell, R.T. & Oscai, L.B.: Total fasting and total fasting plus exercise: effects on body composition of the rat. *J. Nutr.* 104, 452-457 (1974)
- Ball, M.F., Canary, J.J. & Kyle, L.H.: Comparative effects of caloric restriction and total starvation on body composition in obesity. *Ann. Intern. Med.* 67, 60-67 (1967)
- Banet, M.: Long-term cold adaptation in the rat. *Comp. Biochem. Physiol.* 89, 137-140 (1988)
- Baile, C.A., Della-Fera, M.A. & McLaughlin, C.L.: Hormones and feed intake. *Proc. Nutr. Soc.* 42, 113-115 (1983)
- Bailey, C.J., Day, C., Bray, G.A., Lipson, L.G. & Flatt, P.R.: Role of adrenal glands in the development of abnormal glucose and insulin homeostasis in genetically obese (*ob/ob*) mice. *Horm. Metab. Res.* 18, 357-360 (1986)
- Barbato, A.L. & Landau, R.L.: Testosterone deficiency of morbid obesity. *Clin. Res.* 22, 647A-651A (1974)
- Bargmann, W., Hehn, G.U. & Lindner, E.: Über die Zellen des braunen Fettgewebes und ihre Innervation. *Z. Zellforsch. mikroskop. Anat.* 85, 601-613 (1968)
- Bateson, W.: The present state of knowledge of colors heredity in mice and rats. *Proc. Zool. Soc London* 2, 71-99 (1903)
- Batt, R.A.L.: Abnormal dentition and decrease in body weight in the genetically obese mouse (genotype *obob*). *Int.J. Obesity* 2, 457-462 (1978)



- Benedict, F.: Vital energetics. A study in comparative basal metabolism. Carnegie Inst. Publ. (Washington) 503 (1938)
- Benzinger, T.H. & Kitzinger, C.: Direct calorimetry by means of the gradient principle. *Review Scientific Instruments* 20, 849-860 (1949)
- Bergen, W., Kaplan, M. et al.: Growth of adipose and lean tissue mass in hind limbs of genetically obese mice during preobese and obese phases of development. *Am. J. Clin. Nutr.* 28, 157-161 (1975)
- Bernardis, L.L. & Goldman, J.K.: Origin of endocrine-metabolic changes in the weanling rat ventromedial syndrome. *J. Neurosci. Res.* 2, 91-116 (1976)
- Berry, M.N., Clark, D.G., Grivell, A.R. & Wallace, P.G.: The contribution of hepatic metabolism to diet-induced thermogenesis. *Metabolism* 34, 141-147 (1985)
- Bielschowsky, M. & Bielschowsky, F.: A new strain of mice with hereditary obesity. *Proc. Univ. Otago Med. Sch.* 31, 29-31 (1953)
- Björntorp, P.: Adipose tissue in obesity (Willendorf Lecture). In *Recent advances in obesity research* (eds Hirsch, J., Van Itallie JB., London) (1985)
- Björntorp, P.: Classification of obese patients and complications related to the distribution of surplus fat. *Nutrition* 6, 131-137 (1989)
- Björntorp, P.: How should obesity be defined? *J. Int. Med.* 227, 147-149 (1990)
- Blaxter, K.L. & Wainman, F.W.: *Agric. Sci.* 57, 419-422 (1961)
- Blaxter, K.L.: *Energy metabolism in animals and man.* Cambridge University Press (Cambridge) (1989)
- Blaza, S.E. & Garrow, J.S.: The thermogenic response to comfortable temperature extremes in lean and obese subjects. *Proc. Nutr. Soc.* 39, 85A (1980)
- Bloom, W.L. & Eidex, M.F.: Inactivity as a major factor in adult obesity. *Metab. Clin. Exp. Med.* 16, 679-681 (1967)
- Blundell, J.: Pharmacological approaches to appetite suppression. *Trends in Pharmacological Science* 4, 147-157 (1991)
- Boissenaault, G.A., Hornshuh, M.J. et al.: Oxygen consumption of lean and obese (ob/ob) mice from birth to 16 weeks of age. *Federation Proc.* 36, 1150 (1976)
- Bouchard, C.: Current understanding of the etiology of obesity: genetic and non genetic factors. *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 1561S-1965S (1991)
- Bray, G.A.: The obese patient: major problems in internal medicine. (eds WB Saunders, Philadelphia) (1976)
- Bray, G.A.: The inheritance of corpulence. In *The Body Weight Regulatory System: Normal and Disturbed Mechanisms* (Eds L.A. Cioffi, W.P.T. James & T.B. Van Itallie), Raven Press, New York, 185-195 (1981)
- Bray, G.A.: Regulation of energy balance: studies on genetic, hypothalamic and dietary obesity. *Proc. Nutr. Soc.* 41, 95-108 (1982)

- Bray, G.A.: Obesity- a disease of nutrient or energy balance. *Nutr. Rev.* 45, 33-43 (1987)
- Bray, G.A.: Classification and evaluation of the obesities. *Med. Clin. North Am.* 73, 161-180 (1989)
- Bray, G.A.: Genetic and hypothalamic mechanisms for obesity-finding the needle in the haystack. *Am. J. Clin. Nutr.* 50, 891-902 (1989)
- Bray, G.A.: A molecular approach to genetic and hypothalamic obesity. In *Obesity: towards a molecular approach*. 29-43, Alan R. Liss, Inc. (1990)
- Bray, G.A., York, D.A. & Fisler, J.S.: Experimental obesity: a homeostatic failure due to defective nutrient stimulation of the sympathetic nervous system. *Vitam. Horm.* 45, 1-125 (1989)
- Bray, G.A. & Campfield, L.A.: Metabolic factors in the control of energy stores. *Metabolism* 24, 99-117 (1975)
- Bray, G.A. & York, D.A.: Hypothalamic and genetic obesity in experimental animals: an autonomic and endocrine hypothesis. *Physiol.Rev.* 59, 719-809 (1979)
- Brobeck, J.R.: *In The body weight regulatory system: Normal and disturbed mechanisms*. Luigi, Cioffi eds. Raven Press New York (1981)
- Brooks, S.I., Rothwell, N.J., Stock, M.J. et al.: Increased proton conductance pathway in brown adipose tissue mitochondria of rats exhibiting diet-induced thermogenesis. *Nature* 286, 274-276 (1980)
- Brooks, S.I., Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Effects of diet and acute noradrenaline treatment on brown adipose tissue development and mitochondrial purine-nucleotide binding. *Q. J. Exp. Physiol.* 67, 259-268 (1982)
- Brouwer, E.: Report of subcommittee on constants and factors. *Proc. 3rd Symp. on Energy metabolism. Eur. Assoc. Anim. Prod. Publ.* 11, 441-443 (1965)
- Brown, M.R., Fisher, J., Rivier, C., Rivier, J. & Vale, W.: Corticotropin releasing factor: actions on the sympathetic nervous system and metabolism. *Endocrinology* 111, 928-931 (1982)
- Buchtal: *Dan. Biol. Med.* 17, 1-5 (1942)
- Bukowiecki, L.J.: Regulation of energy expenditure in brown adipose tissue. *Int.J. Obes.* 9, suppl 2, 31-42 (1985)
- Bukowiecki, L.J., Folléa, N., Lupien, J. & Paradis, A.: Metabolic relationships between lipolysis and respiration in rat brown adipocytes. The role of long chain fatty acids as regulators of mitochondrial respiration and feedback inhibitors of lipolysis. *J. Biol. Chem.* 256, 12840-12848 (1981)
- Cabanac, M.: Temperature regulation. *A. Rev. Physiol.* 37, 415-439 (1975)
- Cabanac, M. & Brinnet, H.: The pathology of human temperature regulation: Theriatrics. *Experientia* 43, 19-27 (1987)
- Campbell, B.A. & Richardson, R.: Effect of chronic undernutrition on susceptibility to cold stresses in young adult and aged rats. *Mech. Age Develop.* 44, 193-202 (1988)
- Carlisle, H.J. & Stock, M.J.: Effect of conventional (mixed B1/B2) and novel (B3) adrenergic agonists on thermoregulatory behavior. *Pharmacol. biochem. Behav.* 40, 249-254 (1991)

- Casper, R.C.: The pathophysiology of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Ann. Rev. Nutr.* 6, 299-316 (1986)
- Chan, C.P. & Stern, J.S.: Adipose tissue lipoprotein lipase in insulin-treated diabetic lean and obese Zucker rats. *Am. J. Physiol.* 242, E445-450 (1982)
- Closa, D., Alemany, M. & Remesar, X.: Effect of cold exposure on organ temperatures in Wistar and Zucker fa/fa rats. *J. Therm. Biol.* 17, 83-88 (1992)
- Cohn, C. & Joseph, D.: Changes in body composition with force feeding. *Am. J. Physiol.* 196, 965-968 (1959)
- Coleman, D.L.: Genetics of obesity in rodents. In *Recent advances in obesity research II* (eds G.A. Bray, London, Newman) 142-152 (1978)
- Coleman, D.L. & Hummel, K.P.: Hyperinsulinemia in pre-weaning diabetes (db) mice. *Diabetologia* 10, 607-610 (1974)
- Coon, C.S.: *The living races of man*. AA Knopf, New York (1963)
- Coscina, D.V. & Nobrega, J.N.: Anorectic potency of inhibiting GABA transaminase in brain: Studies of hypothalamic, dietary and genetic obesities. *Int. J. Obesity* 8, suppl. 1, 191-199 (1984)
- Cottle, W.H. & Carlsen, L.D.: Regulation of heat production in cold-adapted rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 92, 845-849 (1956)
- Cox, L.E. & Powley, T.L.: Development of obesity in diabetic mice pair-fed with lean siblings. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 91, 358-367 (1977)
- Cuenot, L.: Les races pures et leur combination chez les souris. *Arch. Zool. Exp. Gen.* 122, 123-132 (1905)
- Cushing, H.W.: The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestation (pituitary basophilism). *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 50, 137-195 (1932)
- Danforth, E., Horton, E.S., O'Connell, M. et al.: Dietary-induced alterations in thyroid hormone metabolism during overnutrition. *J. Clin. Invest.* 64, 1336-1347 (1979)
- Dargol'tz, V.G.: Analysis of the constants used in indirect calorimetry of birds. *Soviet J. Ecology* 4, 328-333 (1973)
- Dascombe, M.J., Rothwell, N.J., Sagay, B.O. & Stock, M.J.: Pyrogenic and thermogenic effects of interleukin 1B in the rat. *Am. J. Physiol.* 256, E7-E11 (1989)
- Davis, T.R.A. & Mayer, J.: Imperfect homeothermia in the hereditary obese-hyperglycemic syndrome of mice. *Am. J. Physiol.* 177, 222-226 (1954)
- De Gasquet, P., Pequignot, E.: Lipoprotein lipase activities in adipose tissues, heart and diaphragm of the genetically obese mouse (ob/ob). *Biochem. J.* 127, 445-447 (1972)
- Depocas, F.: *Can. J. Biochem. Physiol.* 38, 107-114 (1960)
- Desautels, M., Zaror-Behrens, G. & himms-Hagen, J.: Increased purine nucleotide binding, altered polypeptide composition and thermogenesis in brown adipose tissue mitochondria of cold-acclimated rats. *Can. J. Biochem.* 56, 378-383 (1978)

- Despretz, C.: La cause de la chaleur animale. *J. Physiol. Exper. Pathologie* 4, 143-159 (1824)
- Dinareello, C.: Interleukin-1. *Rev. Infect. Dis.* 6, 51-59 (1984)
- Donhoffer, S.F. & Vonotzki, J.: The effect of thyroxine on food intake and selection. *Am. J. Physiol.* 150, 334-339 (1947)
- Douglas, C.G.: A method for determining the total respiratory exchange in man. *J. Physiol. London* 42, xvii-xviii (1911)
- Ducimetre, P.J., Richard, J. & Cambien, F.: The pattern of subcutaneous fat distribution in middle-aged men and the risk of coronary heart disease: The Paris prospective study. *Int. J. Obes.* 10, 229-240 (1986)
- Dulong, P.R.: Memoire sur la chaleur animale. *Ann. Chimie Physics* 1, 440-455 (1841)
- Durning, J.V. & Passmore, R.: In *Energy, work and leisure*. Heinemann, London (1967)
- Eckel, R.H.: Adipose tissue lipoprotein lipase. In *Lipoprotein lipase*. J. Borensztajn ed. Evers Publishers Inc. Chicago 79-132 (1987)
- Eley, C., Goldsmith, R., Layman, D. & Wright, B.M.: A miniature indicating and sampling respirometer (Miser). *J. physiol London* 256, 59-60 (1976)
- Elliot, J., Dade, E., Salmon, D. & Hems, D.: Hepatic metabolism in normal and genetically obese mice. *Biochim. Biophys. Acta* 343, 307-323 (1976)
- Eng, R., Gold, R.M. & Wade, G.N.: Ovariectomy-induced obesity is not prevented by subdiaphragmatic vagotomy in rats. *Physiol. Behav.* 22, 353-356 (1979)
- Fehling, H.: *Metabolism* 22, 2 (1973)
- Feldman, H.A. & McMahon, T.A.: The 3/4 exponent for energy metabolism is not a statistical artifact. *Resp. Physiol.* 52, 149-163 (1983)
- Ferrannini, E.: The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism*, 37, 287-301 (1988)
- Fisler, J.S. & Bray, G.A.: Dietary obesity: a metabolic hypothesis. In *Obesity: towards a molecular approach*. 29-43, Alan R. Liss, Inc. (1990)
- Flatt, J.P., Pahud, P., Ravussin, E. & Jéquier, E.: An estimate of the P:O ratio in man. *Trends in Biochem. Sci.* 9, 466-468 (1984)
- Forbes, G.B. & Reina, J.C.: Adult lean body mass declines with age: some longitudinal observations. *Metabolism* 19, 653-663 (1970)
- Foster, D.O.: Participation of alpha-adrenoceptors in brown adipose tissue thermogenesis in vivo. *int. J. Obes.* 9, suppl.2, 25-29 (1985)
- Foster, D.O. & Depocas, F.: Evidence against noradrenergic regulation of vasodilatation in rat brown adipose tissue. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 58, 1418-1425 (1980)
- Foster, D.O. & Frydman, M.L.: Nonshivering thermogenesis in the rat. Measurements of blood flow with microspheres point to brown adipose tissue as the dominant site of the calorogenesis induced by noradrenaline. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 56, 110-122 (1978)

- Foster, D.O. & Frydman, M.L.: Tissue distribution of cold-induced thermogenesis in conscious warm- or cold-acclimated rats reevaluated from changes in tissue blood flow: the dominant role of brown adipose tissue in the replacement of shivering by nonshivering thermogenesis. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 57, 257-270 (1979)
- Gabilan, J.C.: *Syndrome de Prader, Labhart et Willi.* *J. Pediatr. (Paris)* 1, 179-185 (1962)
- Garrow, J.S.: In *Energy balance and obesity in man.* North Holland/Elsevier Eds. New York (1978).
- Garrow, J.S. & Webster J.: Quetelet's index ( $W/H^2$ ) as a measure of fatness. *Int. J. Obes.* 9, 147-153 (1985)
- Gimbutas, M.: The goddesses and gods of old Europe. In *Myths and cult images* (Eds Thames and Hudson, London) (1974)
- Giorgino, R., Cignarelli, M., Garruti, G. & De Pergola, G.: Obesity and autonomic nervous system. In *Obesity: basic concepts and clinical aspects.* Front Diabetes. Belfiore, Jeanrenaud, Papalia eds. 11, 37-49 (1992)
- Gibbs, J. & Smith, G.P.: Effects of brain-gut peptides on satiety. In *Obesity.* Björntorp & Brodoff eds. Philadelphia 399-410 (1992)
- Gibbs, J., Young, R.C. & Smith, G.P.: Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 84, 488-495 (1973)
- Girardier, L.: Brown fat: an energy dissipating tissue. *Mammalian Thermogenesis.* L. Girardier, M.J. Stock, Eds.: Chapman and Hall, London 50-98 (1983)
- Givens, J.R.: Polycystic ovaries: A sign, not a diagnosis. *Semin. Reprod. Endocrinol.* 2, 271-275 (1984)
- Godbole, V., York, D.A. & Bloxham, D.B.: Developmental changes in the fatty (fa/fa) rat: evidence for defective thermogenesis preceding hyperlipogenesis and hyperinsulinemia. *Diabetologia* 15, 41-44 (1978)
- Goldman, J.K. & Bernardis, L.L.: Protein metabolism in weanling rats with hypothalamic obesity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 151, 155-159 (1976)
- Gomez, C.A.: Gastropasty in the surgical treatment of obesity. *Am. J. Clin. Nutr.* 33, 406-410 (1980)
- Gray, D.S.: Diagnosis and prevalence of obesity. *Med. Clin. North Am.* 73, 1-13 (1989)
- Green, R.M.: A translation of Galen's *Hygiene (De Sanitate Tuenda)*, Springfield, IL: Charles C. Thomas.
- Gulik, A.: A study of weight regulation in the adult human body during over nutrition. *Am. J. Physiol.* 60, 371-395 (1922)
- Gurr, M.I., Mawson, R., Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Effects of manipulating dietary protein and energy intake on energy balance and thermogenesis in pigs. *J. Nutr.* 110, 532-542 (1980)
- Haldane, J.S.: Some improved methods of gas analysis. *J. Physiol. London* 22, 465-480 (1898)
- Hart, J.S. & Jansky, L.: Thermogenesis due to exercise and cold in warm- and cold-acclimated rats. *Can. J. Biochem. Physiol.* 41, 629-634 (1963)
- Hellman, B. Thelander, L. & Taljedal, I.B.: Postnatal growth of epididymal adipose tissue in yellow obese mice. *Acta Anat.* 55, 286-294 (1963)



- Hemmingsen, A.M.: Energy metabolism as related to body size and respiratory surfaces, and its evolution. Reports of the Steno Memorial Hospital and Nordic Insulin Laboratorium 9, 60-72 (1960)
- Hemms, D.A., Rath, E.A. & Verinder, T.R.: Fatty acid synthesis in liver and adipose tissue of normal and genetically obese (ob/ob) mice during the 24 hour cycle. *Biochem. J.* 150, 167-173 (1975)
- Henrikson, V.: Is small bowel resection justified as treatment for obesity ?. *Nordisk Med.* 47, 744-750 (1952)
- Henson, L.C., Poole, D.C., Danahoe, C.P. & Heber, P.A.: Effects of exercise training on energy expenditure during caloric restriction. *Am. J. Clin. Nutr.* 46, 893-899 (1987)
- Herbaj, G.: Weight loss in obese-hyperglycemic and normal mice following transauricular hypophysectomy by a modified technique. *Acta Endocrinol.* 65, 712-722 (1970)
- Herberg, L., Dopfer, W., Major, E. & Gries, F.A.: Dietary induced hypertrophic hyperplastic obesity in mice. *J. Lip. Res.* 15, 580-585 (1974)
- Herberg, L., Major, E. et al. : Differences in the development of the obese-hyperglycemic syndrome on obob and NZO mice. *Diabetologia* 6, 292-299 (1970)
- Hervey, E. & Hervey, G.R.: The effects of progesterone on body weight and composition in the rat. *J. Endocrinol.* 37, 361-384 (1967)
- Hervey, E. & Hervey, G.R.: The influence of sex hormones on energy balance. In *In The body weight regulatory system: Normal and disturbed mechanisms*. Luigi, Cioffi eds. Raven Press New York. 345-352 (1981)
- Hervey, G.R., Hutchinson, I., Knibbs, A.V., Burkinshaw, A.V. et al.: *Lancet* ii, 699-702 (1976)
- Heterington, A.W. & Ranson, S.W.: Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *Anat.Rec.* 78,149-172 (1940)
- Heusner, A.A.: Biological similitude: Statistical and functional relationships in comparative physiology. *Am. J. Physiol.* 246, R839-845 (1984)
- Hill, A.V. & Hartree, W.: The four phases of heat production in muscle. *J. Physiol.* 54, 84-128 8 1920)
- Himms-Hagen, J.: Lipid metabolism during cold exposure and cold acclimation. *Lipids* 7, 310-320 (1982)
- Himms-Hagen, J.: Brown adipose tissue metabolism. In *Obesity*. Björntorp & Brodoff eds. Philadelphia 15-34 (1992)
- Himms-Hagen, J. & Desautels, M.: A mitochondrial defect in brown adipose tissue of obese (ob/ob) mouse: reduced binding of purine nucleotides and a failure to respond to cold by an increase in binding. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 83, 628-634 (1978)
- Himms-Hagen, J., Triandafillou, J. & Gwilliam, C.: Brown adipose tissue of cafeteria-fed rats. *Am. J. Physiol.* 241, E116-E120 (1981)
- Horwitz, B.A.: Oubain-sensitive component of brown fat thermogenesis. *Am. J. Physiol.* 224, 352-355 (1973)

- Hoyle, S.: *Scientific Am.* 222, 84 (1970)
- Hsieh, A.C.L., Carlson, L.D. & Gray, G.: Role of the sympathetic nervous system in the control of chemical regulation of heat production. *Am J, Physiol.* 190, 247-251 (1957)
- Humphrey, S.J.E. & Wolff, H.S.: The oxylog. *J. Physiol. London* 267, (1977)
- Hustvedt, B.E. & Lovo, A.: Correlation between hyperinsulinemia and hyperphagia in rats with ventromedial hypothalamic lesions. *Acta Physiol. Scand.* 84, 29-33 (1972)
- Ingalls, A.M., Dickie, M.M. & Snell, G.D.: Obesity, new mutation in the mouse. *J. Hered.* 41, 317-318 (1950)
- Ingbar, S.H. & Woeber, K.A.: The thyroid gland. In *Textbook of Endocrinology* (eds. Williams R.H., Saunders, Philadelphia), 117-247 (1981)
- Iwatsuka, H., Shino, A. & Suzuoki, A.: General recovery of diabetic features of yellow KK mice. *Endocrinol. Jpn.* 17, 25-35 (1970)
- James, W.P.T., Davies, H.L. et al.: Elevated metabolic rates in obesity. *Lancet*, i, 1122-1125 (1978)
- James, W.P.T. & Trayhurn, P.: An integrated view of the metabolic and genetic basis for obesity. *Lancet* 2, 770-773 (1976)
- Jansky, L.: Non-shivering thermogenesis and its thermoregulatory significance. *Biol. Rev.* 48, 85-132 (1973)
- Jeanrenaud, B.: An overview of experimental models of obesity. IN *Recent advances in obesity research II* (eds G.A. Bray, London: Newman) 111-122 (1978)
- Jéquier, E., Acheson, K. & Schutz, Y.: Assessment of energy expenditure and fuel utilization in man. *Ann. Rev. Nutr.* 7, 187-208 (1987)
- Jéquier, E., Gyax, P-H, Pittet, P. & Vannotti, A.: Increased thermal body insulation: relationship to the development of obesity. *J. Appl. Physiol.* 36, 674-678 (1974)
- Jepson, M.J., Pell, P., Bates, P. & Millward, D. J.: The effects of endotoxaemia on protein metabolism in skeletal muscle and liver of fed and fasted rats. *Biochem. J.* 235, 329-336 (1986)
- Jonhson, P.R., Stern, J.S. et al: Effect of early nutrition on adipose cellularity and pancreatic insulin release in the Zucker rat. *J. Nutr.* 103, 738-743 (1973)
- Johnson, P.R. & Hirsch, J.: Cellularity of adipose depots in six strains of genetically obese mice. *J. Lipid Res.* 13, 2-11 (1972)
- Joosten, H. & Van der Kroon, P.: Enlargement of epididymal adipocytes in relation to hyperinsulinemia in obese hyperglycemic mice (ob/ob). *Metabolism* 23, 59-66 (1974)
- Jung, R.T.: Endocrinological aspects of obesity. *Clin. Endocrin. Metabol.* 13, 597-612 (1984)
- Jung, R.T., Shetty, P.S., James, W.P.T.: The effect of refeeding after semistarvation on catecholamine and thyroid metabolism. *Int. J. Obes.* 4, 95-100 (1980)
- Kasser, T.R., Harris, R.B.S. & Martin, R.J.: Level of satiety: GABA and pentose shunt activities in three brain sites associated with feeding. *Am. J. Physiol.* 248, R453- R460 (1985)

- Kaul, R., Schmidt, I. & Carlisle, H.: Maturation of thermoregulation in Zucker rats. *Int. J. Obes.* 9, 401-409 (1985)
- Kennedy, G.C.: The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc. Royal Soc. London* 140, 578-592 (1953)
- Kimura, H. & Kuriyama, K.: Distribution of gamma-aminobutyric acid (GABA) in the rat hypothalamus. functional correlates of GABA with activities of appetite controlling mechanisms. *J. Neurochem.* 24, 903-905 (1975)
- Kleiber, M.: In *The fire of life*. John Wiley (1961)
- Kofranyi, E. & Michaelis, H.F.: Ein tragbarer apparat zur bestimmung des Gasstoffwechsels. *Arbeitsphysiologie* 11, 148-150 (1940)
- Komindr, S., Kurtz, B.R., Stevens, M.D. et al.: Relative sensivity and responsivity of serum cortisol and two adrenal androgens to a-adrenocorticotropin (1-24) in normal and obese, nonhirsute, eumenorrhic women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 63, 860-865 (1986)
- Konello, K., Nozawa, K. et al: Inbred strains resulting from Japanese mice. *Bull. Exp. Animal* 6, 107-112 (1957)
- Kral, J.G.: Gastric balloons: A plea for sanity in the midst of baloonacy. *Gastroenterology* 95, 213-220 (1988)
- Kral, J.G.: Behavioral effects of vagotomy in humans. *J. Autonom. Nerv. Syst.* 9, 273-280 (1983)
- Krief, S. & Bazin, R.: Genetic obesity: Is the defect in the sympathetic nervous system ? A review through developmental studies in the preobese Zucker rat. 528-538 (1991)
- Kuroshima, A., Konno, N. & Itoh, S.: Increase in the blood flow throught brown adipose tissue in response to cold exposure and norepinephrine in the rat. *Jap. J. Physiol.* 17, 523-537 (1967)
- Kuroshima, A., Yahata, T., Habara, Y. & Ohno, T.: Hormonal regulation of BAT -with special references to the participation of endocrine pancreas. *J. Therm. Biol.* 9, 81-85 (1984)
- Kuroshima, A., Yahata, T. & Ohno, T.: Effect of noradrenaline on plasma hormones and metabolism in cold-acclimated rats. *Jpn. J. Physiol.* 38, 199-207 (1988)
- Landsberg, L. & Young, J.B.: Autonomic regulation of thermogenesis. In *Mammalian Thermogenesis*. L. Girardier, M.J. Stock, Eds.: 99-140 Chapman and Hall, London (1983)
- Landsberg, L. & Young, J.B.: The role of the sympathetic nervous system and catecholamines in the regulation of energy metabolism. *Am. J. Cin. Nutr.* 38, 1018-1024 (1983)
- Langhans, W. & Scharrer, E.: Evidence for a role of the sodium-pump of hepatocytes in the control of food intake. *J. Autonom Nerv. System* 13, 475-499 (1984)
- Lapidus, L., Bengtsson, C., Larsson, B. et al.: Distribution of adipose tissue and risk of cardiovascular disease and death: A 12-year follow-up of participants in the population study of women in Gothenburg, Sweden. *Br. Med. J.* 289, 1257-1261 (1984)
- Lean, M.E.J.: Brown adipose tissue and obesity. In *Obesity: basic concepts and clinical aspects*. Front Diabetes. Belfiore, Jeanrenaud, Papalia eds. 11, 37-49 (1992)
- LeBlanc, J. & Cote, J.: Increased vagal activity in cold- adapted animals. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*

45, 745-748 (1967)

- LeBlanc, J. & Pauliot, M. *Am. J. Physiol.* 207, 853-856 (1964)
- Leduc, J.: Catecholamine production and release in exposure and acclimation to cold. *Acta Physiol. Scand.* 53, 1-101 (1961)
- Leibowitz, S.F. & Stanley, B.G.: Brain peptides and the control of eating behaviour. In *Neural and endocrine peptides and receptors*. T.W. Moody, Eds.: 333-352 Plenum Press, New York (1986)
- Leibowitz, S.F., Weiss, G.F. & Shor-Posner, G.: Medial hypothalamic serotonin in the control of eating behavior. *Int. J. Obesity* 11, suppl.3, 109-123 (1987)
- Lemonnier, D., Aubert, R., Suquet, J.P. & Rosselin, G.: Metabolism of genetically obese rats on normal or high fat diet. *Diabetologia* 10, 697-701 (1974)
- Leung, P.M.B. & Horwitz, B.A.: Free feeding patterns of rats in response to changes in environmental temperature. *Am. J. Physiol.* 231, 1220-1224 (1976)
- Levine, A.S., Rogers, B., Kneip, J., Grace, M. & Morley, J.E.: *Neuropharmacol.* 22, 337-339 (1983)
- Lifson, N., Gordon, G.B. & McClinton, R.: Measurement of total carbon dioxide production by means of D<sub>2</sub><sup>18</sup>O. *J. Appl. Physiol.* 7, 704-710 (1955)
- Like, A.A. & Chick, W.L.: Studies in the diabetic mutant mouse. I. Light microscopy and radioautography of pancreatic islets. *Diabetologia* 6, 207-215 (1970)
- Like, A.A., Lavine, R.L., Poffenberger, P.L. & Chick, W.L.: Studies in the diabetic mutant mouse. VI. Evaluation of glomerular lesions and associated proteinuria. *Am. J. Pathol.* 66, 193-224 (1972)
- Lin, P.Y., Romsos, D. & Leveille, G.: Food intake, body weight gain and body composition of young obese (ob/ob) mice. *J. Nutr.* 107, 1715-1723 (1977)
- Lin, M.H., Romsos, D.R., Akera, T. & Leveille, G.A.: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase enzyme units in skeletal muscle and liver of 14-day-old lean and obese (ob/ob) mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 161, 235-238 (1979)
- Lin, M.H., Vander Tuig, J.G., Romsos, D.R., Akera, T. & Leveille, G.A.: Heat production and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase enzyme units in lean and obese (ob/ob) mice. *Am. J. Physiol.* 238, E193-199 (1980)
- Loten, E., Le Marchand, Y., Assimakopoulos, F. et al.: Does hyperinsulinemia in ob/ob mice cause an insuline stimulated adipose tissue. *Am. J. Physiol.* 230, 602-607 (1976)
- Luiten, P.G.M., ter Horst, G.J. & Steffens, A.B.: The hypothalamus norepinephrine connections and outflow pathways to the endocrine system in relation to the control of feeding and metabolism. *Prog. Neurobiol.* 28, 1-54 (1987)
- Ma, S.W., Nadeau, B.E. & Foster, D.O.: Absence of increased thermogenesis in the interscapular brown adipose tissue (IBAT) of conscious, "cafeteria-diet" rats resting at 28°C. Abstracts of the 5th International Congress on Obesity, Jerusalem (Israel), pag. 34 (1986)
- Ma, S.W., Nadeau, B.E. & Foster, D.O.: Evidence for the liver as the major site of diet-induced thermogenesis of rats fed a "cafeteria" diet. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 65, 1802- 1804 (1987)
- Marchington, D., Rothwell, N.J., Stock, M.J. & York, D.A.: Energy balance, diet-induced thermogenesis and brown adipose tissue in lean and obese (fa/fa) Zucker rats after adrenalectomy. *J. Nutr.*

113, 1395-1402 (1983)

- Marchington, D., Rothwell, N.J., Stock, M.J. & York, D.A.: Thermogenesis and sympathetic activity in brown adipose tissue of overfed rats following adrenalectomy. *Am. J. Physiol.* 250, E362-366 (1986)
- Martin, J.M., Konijnendijk, W. & Bouman, P.R.: Insulin and growth hormone secretion in rats with ventromedial hypothalamic lesions maintained on restricted food intake. *Diabetes* 23, 203-208 (1974)
- Martin, J.M., Wangsness, P.J. & Gahagan, J.H.: Diurnal changes in serum metabolites and hormones in lean and obese Zucker rats. *Horm. Metab. Res.* 10, 187-192 (1978)
- Martin, R.J. & Gahagan, J.H.: The influence of age and fasting on serum hormones in the lesn and obese Zucker rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 154, 610-614 (1977)
- Martin, R.J., Drewry, M., Jewell, D., Harris, R.B.S., Young, R. & Patton, J.S.: Grrowth hormone treatment reduces total body fat accumulation in Zucker obese rats. *Int. J. Obes.* 13, 327-335 (1989)
- Mayer, J.: Glucostatic mechanism of regulation of food intake. *New Engl. J. Med.* 249, 13-16 (1953)
- Mayer, J.R.: Bemerkungen über die krafte der unbelebten natur. *Liebig's Annalen der Chimie und Pharmacie* 42, 233-240 (1842)
- McLean, J.A.: Open-circuit calorimetry. *Med. Biol. Eng. Comput.* 25, 239-240.
- McLean, J.A. & Tobin, G.: In *Animal and human calorimetry*. Cambrigde University Press (1977)
- McKeown, T. & Record, R.G.: The influence of reproduction on body weight in women. *J. Endocrinol.* 15, 393-409 (1957)
- Mejsnar, J. & Jansky, L.: Methods for estimating non-shivering thermogenesis. In *Non-shivering thermogenesis*. Jansky eds. 27-36 (1971)
- Merril, A.L. & Watt, B.K.: Energy values of food. In *Agricultural Handbook 74*. Washington (1955)
- Miller, D.S. & Mumford, P.: Gluttony 1. An experimental study of overeating on high or low protein diets. *Am J. Clin. Nutr.* 20, 1212-1222 (1967)
- Miller, D.S. & Payne, P.R.: Weight maintenance and food intake. *J. Nutr.* 78, 255-262 (1962)
- Miller, B.G., Otto, W.R., Grimble, R.F. et al.: The relationship between protein turnover and energy balance in lean and genetically obese (ob/ob) mice. *Br. J. Nutr.* 42, 185-199 (1979)
- Modan, M., Halkin, H., Almog, S. et al.: Hyperinsulinemia: a link between hypertension, obesity and glucose intolerance. *J. Clin. Invest.* 75, 809-817 (1985)
- Mohr, B.: Hypertrophie der hypophysis cerebri und dadurchbedingter. *Hirnschenkel Wschr. Ges. Heilk.* 6, 565-571 (1840)
- Mole, P.A., Stern, J.S., Schultz, C.L., Bernauer, E.M. & Holcomb, B.J.: Exercise reverses depressed metabolic rate produced by severe caloric restriction. *Med. Sci. Sports Exercise* 21, 29-33 (1989)
- Moore, B.J.: The cafeteria diet -an inappropriate tool for studies of thermogenesis. *J. Nutr.* 115, 1447-

1458 (1985)

- Morley, J.E.: Neuropeptide regulation of appetite and weight. *Endocr. Rev.* 8, 256-287 (1987)
- Moulton, C.R., Trowbridge, P.F. & Haigh, L.D.: Studies in animal nutrition 3. Changes in chemical composition on different planes of nutrition. *Univ. Missouri Agr. Exper. Stat. Res. Bull.* 55 (1922)
- Mount, L.E.: Heat transfer between animal and environment. *Proc. Nutr. Soc.* 37, 5-12 (1978)
- Mrosovsky, N & Rowlat, U.: *Biol. Neonate* 13, 230-252 (1968)
- Murray, J.A.: The chemical composition of animal bodies. *J. Agr. Sci. (Cambridge)* 12, 103-110 (1922)
- Nacht, C.A., Christin, L., Temler, E., Chiolero, R., Jequier, E. & Acheson, K.J.: Thermic effect of food: possible implication of parasympathetic nervous system. *Am. J. Physiol.* 253, E481-E488 (1987)
- Nedergaard, J. & Cannon, B.: In *Bioenergetics*. *Ernster, L. ed, Elsevier Scientific Publishing Co. Amsterdam.* 291-314 (1984)
- Neel, J.V.: Diabetes mellitus: A "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress". *Am. J. Human Genet.* 14, 353-362 (1962)
- Neumann, R.O.: Experimentelle beitrage zur lehre von dem taglichen nahrungsbedarf des menschen unter besonderer berucksichtigung der not wendigen eiweissmenge. *Arch. Hyg.* 45, 1-87 (1902)
- Nicholls, D.G.: Brown adipose tissue mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta.* 549, 1-29 (1979)
- Nicholls, D.G.: *Eur. J Biochem.* 62,223-228 (1976)
- Nicholls, D.G. & Locke, R.: Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiol. Rev.* 64, 1-64 (1983)
- Nisbett R.E.: Hunger, obesity, and the ventromedial hypothalamus. *Psychol. Rev.* 79, 433-453 (1972)
- Núñez, A.A. & Grundman, M.: Testosterone affects food intake and body weight of weanling male rats. *Pharm. Biochem. Behav.* 16, 933-936 (1982)
- Olefsky, J.M.: Insulin resistance and insulin action: an in vitro and in vivo perspective. *Diabetes* 30, 148-162 (1981)
- Ohshima, K., Shargill, N.S., Chan, T.M. & Bray, G.A.: Adrenalectomy reverses insulin resistance in muscle from obese (ob/ob) mice. *Am. J. Physiol.* 246, E193-197 (1984)
- Paul, A.A. & Southgate, D.A.: In *The composition of foods*. McCance & Widdowson, London (1978)
- Peña, M., Amador, M. & Bacallao, J.: Obesity . In *Nutritional Anthropology* (eds Johnston, FE; Alan R. Liss, New York) 255-276 (1987)
- Peterson, H.R., Rothschild, M., Weinberg, C.R., et al.: *N. Engl. J. Med.* 318, 1073-1077 (1986)
- Pettenkofer, M. & Voit, C.: Untersuchungen über den stoffverbrauch des normalen menschen. *Zeitschrift für Biologie* 2, 478-573 (1866)
- Pi-Sunyer, F.X.: Effect of exercise in food intake. In *Obesity*. Björntorp & Brodoff eds. Philadelphia 454-462 (1992)
- Poe, R.H., Davis, T.R.A.: Cold exposure and acclimation in alloxan-diabetic rats. *Am. J. Physiol.* 202,

1045-1048 (1962)

- Poole, S. & Stephenson, J.D.: Body temperature regulation and thermoneutrality in rats. *Q. J. Exp. Physiol.* 62, 143-149 (1977)
- Powers, P.S.: Obesity. The regulation of weight. Baltimore: Williams & Wilkins, 27-42 (1980)
- Powley, T.L.: The ventromedial hypothalamic obesity abolished by subdiaphragmatic vagotomy. *Am. J. Physiol.* 226, 25-33 (1974)
- Powley, T.L. & Opsahl, C.A.: Ventromedial hypothalamic obesity abolished by subdiaphragmatic vagotomy. *Am. J. Physiol.* 226, 25-33 (1974)
- Prats, E., Monfar, M., Castellà, J., Iglesias, R. & Alemany, M.: Energetic intake of rats fed a cafeteria diet. *Physiol. Behav.* 45, 263-272 (1989)
- Precope, J.: Hippocrates on diet and hygiene. London : "Zeno"
- Pullar, J.D. & Webster, A.J.: Heat loss and energy retention during growth in congenitally obese and lean rats. *Br. J. Nutr.* 31, 377-392 (1974)
- Rabin, B.M.: Independence of food intake and obesity following ventromedial hypothalamic lesions in the rat. *Physiol. Behav.* 13, 769-772 (1974)
- Radcliffe, J.D. & Webster, J.F.: Sex, body composition and regulation of food intake during growth in the Zucker rat. *Br. J. Nutr.* 39, 483-492 (1978)
- Rebuffé-Scrive, M.: Steroid hormones and distribution of adipose tissue. *Acta Med. Scand suppl* 723, 143-150 (1987)
- Rebuffé-Scrive, M., Anderson, B., Olbe, L. et al.: Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots in non-obese men and women. *Metabolism* 38, 453-467 (1989)
- Refinetti, R.: Computation of the effective body mass for metabolic studies of lean and obese rats. *Metabolism* 8, 763-766 (1989)
- Regnault, V. & Reiset, J.: Recherches chimiques sur la respiration des animaux des diverses classes. *Ann. Chimie Physique* 26, 299-519 (1849)
- Rickier, D., Mory, G. & Hemon, P.: Changes induced by cold adaptation in the brown dipose tissue from several species of rodents, with special reference to the mitochondrial components. *Can. J. Biochem.* 57, 1262-1266 (1979)
- Riva, P., Alboni, S., Bonati, M., Bellini, M. et al.: Endocrine aspects of obesity. In *Obesity: basic concepts and clinical aspects*. Front Diabetes. Belfiore, Jeanrenaud, Papalia eds. 11, 95-109 (1992)
- Riva, P., Leonardi, C., Bonati, E. & Bonati, B.: In *Obesità, Aggiornamenti*. CIC, Roma, 121-145 (1986)
- Robinson, J.J.: Changes in body composition during pregnancy and lactation. *Proc. Nutr. Soc.* 45, 71-80 (1986)
- Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. *Nature* 281, 31-35 (1979)
- Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Intra-strain difference in the response to overfeeding in the rat. *Proc. Nutr.*

Soc. 39, 5A (1980)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Thermogenesis induced by cafeteria feeding in young growing rats. Proc. Nutr. Soc. 39, 5A (1980)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Regulation of energy balance. Ann. Rev. Nutr. 1, 235-256 (1981)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Metabolism, 30, 673 (1981)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Effect of chronic food restriction on energy balance....J. Physiol. 234, 59-60 ? (1982)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Effects of feeding a palatable "cafeteria" diet on energy balance in young and adult lean (+/? ) Zucker rats. Br. J. Nutr. 47, 461-471 (1982)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Energy expenditure of "cafeteria fed" rats determined from measurements of energy balance and 24-hour oxygen consumption. J. Physiol. 324, 59-60 (1982)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Energy expenditure of "cafeteria fed" rats determined from measurements of energy balance and indirect calorimetry. J Physiol. London 328, 371-377 (1982)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Diet induced thermogenesis. In *Mammalian Thermogenesis*. L. Girardier, M.J. Stock, Eds.: 208-233. Chapman and Hall, London (1983)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Sympathetic and adrenocorticotoid influences on diet-induced thermogenesis and brown fat activity in the rat. Comp. Biochem. Physiol. 79A, 575-579 (1984)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Thermogenesis and brown adipose tissue activity in hypophysectomised rats with and without corticotropin replacement. Am. J. Physiol. 249, E333-336 (1985)

Rothwell, N.J. & Stock, M.J.: Influences of adrenalectomy on age-related changes in energy balance, thermogenesis and brown fat activity in the rat. Comp. Biochem. Physiol. 89A, 265-269 (1988)

Rothwell, N.J., Stock, M.J. & Wyllie, M.G.: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity and noradrenalina turnover in brown adipose tissue of rats exhibiting diet-induced thermogenesis. Biochem. Pharmacol. 30, 1709-1712 (1981)

Rowe, J.W., Young, J.B., Minaker, K.L., Stevens, A.L., Pallotta, J. & Landsberg, L.: Effect of insulin and glucose infusions on sympathetic nervous system activity in normal man. Diabetes 30, 219-225 (1981)

Rubner, M.: Über die einfluss der körpergrösse auf stoff und kraftwechsel. Zeitschrift für Biologie. 19, 535-562 (1883)

Runswick, M.J., Powel, S.J., Nyren, P. et al.: Sequence of the bovine mitochondrial phosphate carrier protein: Structural relationship to ADP/ATP translocase and the brown fat mitochondria uncoupling protein. EMBO J. 6,1367-1372 (1987)

Saito, M. & Bray, G.A.: Adrenalectomy and food restriction in the genetically obese (ob/ob) mice. Am. J. Physiol. 246, R20-25 (1984)

Schemmel, R.A. & Mickelsen, O.: Influence of diet, strain, age and sexe on fat depot mass and body composition of the nutritionally obese rat. In *The regulation of Adipose Tissue Mass* (eds. J. Vague, J. Boyer) American Elsevier, New York, 238-253 (1974)

Schemmel, R.A., Teague, R.J. & Bray, G.A.: Obesity in Osborne-Mendel and S5B/PI rats: effects of



- sucrose solution, castration, and treatment with estradiol or insulin. *Am J. Physiol.* 243, R347-353 (1982)
- Schmidt-Nielsen, K.: Energy metabolism. In *Animal Physiology*. Cambridge University Press (Cambridge) 208-258 (1975)
- Scholander, P.F.: Analyser for accurate estimation of respiratory gases in one-half cubic centimetre samples. *J. Biol. Chemistry* 167, 235-250 (1947)
- Schonbaum, E., Johnson, G.E., Sellers, E.A. & Gill, M.J.: Adrenergic beta-receptors and non-shivering thermogenesis. *Nature* 210, 426-429 (1966)
- Sclafani, A.: Animal models of obesity: classification and characterization. *Int. J. Obesity* 8, 491-508 (1984)
- Sclafani, A. & Berner, C.N.: Influence of diet palatability on the meal taking behaviour of hypothalamic hyperphagic and normal rats. *Physiol. Behav.* 16, 335-363 (1976)
- Sclafani, A. & Springer, D.: Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. *Physiol. Behav.* 17, 461-471 (1976)
- Sellers, E.A., Scott, J.W. & Thomas, N.: Electrical activity of skeletal muscle of normal and acclimatized rats on exposure to cold. *Am. J. Physiol.* 177, 372-376 (1954)
- Shibata, H., Perusse, F. & Bukowiecki, L.J.: The role of insulin in non-shivering thermogenesis. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 65, 152-158 (1987)
- Shimazu, T., Noma, M. & Saito, N.: Chronic infusion of norepinephrine into the ventromedial hypothalamus induces obesity in rats. *Brain Res.* 369, 215-223 (1986)
- Silva, J.E. & Larsen, P.R.: Potential of brown adipose tissue type II thyroxine 5'-deiodinase as a local and systemic source of triiodothyronine in rats. *J. Clin. Invest.* 76, 2296-2305 (1985)
- Silver, A.J. & Morley, J.E.: Role of colesticquinina in regulation of food intake. *Progress Neurobiol.* 36, 23-34 (1991)
- Sims, E.A.H., Danforth, E., Horton, E.S., Bray, G., Glennon, J.A. & Salans, L.B.: *Recent Prog. Horm. Res.* 30, 457-496 (1973)
- Slavin, B.G. & Bernick, S.: Morphological studies on denervated brown adipose tissue. *Anat. Rec.* 179, 497-506 (1974)
- Smith, P.E.: The disabilities caused by hypophysectomy and their repair. *J. Am. Med. Assoc.* 88, 158 (1927)
- Smith, R.E. & Hock, J.R.: *Science* 140, 199-200 (1963)
- Smith, R.E. & Horwitz, B.A.: Brown fat and thermogenesis. *Physiol. Rev.* 49, 330-425 (1969)
- Smith, T.J. & Edelman, I.S.: The role of sodium transport in thyroid thermogenesis. *Federation Proc.* 38, 2150-2153 (1979)
- Smith, R.E. & Roberts, J.C.: Thermogenesis of brown adipose tissue in cold acclimated rats. *Am. J. Physiol.* 206, 143-148 (1964)
- Snowdon, C.T.: Motivation, regulation and the control of meal parameters with oral and intragastric

- feeding. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 69, 91-100 (1969)
- Southgate, D.A.T. & Durnin, J.V.G.A.: Caloric conversion factors. An experimental re-assessment of the factors used in the calculation of the energy value of human diets. *British J. Nutr.* 24, 517-535 (1970)
- Steffens, A.B.: Blood glucose and FFA levels in relation to the meal pattern in the normal rat and the ventromedial hypothalamic lesioned rat. *Physiol. Behav.* 4, 216-225 (1969)
- Steinmetz, J., Lowry, L. & Yen, T.T.: An analysis of the lipolysis in vitro of obese-hyperglycemic and diabetic mice. *Diabetologia* 5, 373-378 (1969)
- Stern, J., Dunn, J. & Johnson P.: Spontaneous activity and adipose cellularity in genetically obese yellow (A/a) mouse. *Federation Proc.* 36, 1150 (1977)
- Stirling, J.L. & Stock, M.J.: Metabolic origins of thermogenesis induced by diet. *Nature* 220, 801-802 (1968)
- Stock, M. & Rothwell, N.: Obesity and leanness: basic aspects (eds John Libbey, London) 76-87 (1982)
- Straus, E. & Yalow, R.S.: Cholecystokinin in the brains of obese and nonobese mice. *Science*, 203, 69-75 (1979)
- Stunkard, A.J., Sorensen, T.A. & Harris C.: An adoption study of human obesity. *New Engl. J. Med.* 314, 193-199 (1986)
- Stunkard, A.J., Van Itallie, T.B. & Reis, B.B.: The mechanism of satiety: Effects of glucagon on gastric hunger contractions in man. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 89, 258-268 (1955)
- Stunkard, A.J. & Wadden, T.A.: Restrained eating and human obesity. *Nutr. Rev.* 48, 78-86 (1990)
- Subrahmanyam, K.: Metabolism in the New Zealand strain of obese mice. *Biochem. J.* 76, 548-556 (1960)
- Swick, A.G. & Swick, R.W.: Changes in GDP-binding to brown adipose tissue mitochondria and the uncoupling protein. *Am. J. Physiol.* 255, E865-870 (1988)
- Taketomi, S., Tsuda, M. et al : Alterations of hepatic enzyme activities in KK and yellow KK mice with various diabetic states. *Horm. Metab. Res.* 5, 333-339 (1973)
- Thomas, D.W. & Mayer, J.: Meal taking and regulation of food intake by normal and hypothalamic hyperphagic rats. *J. Comp. Physiol. Pharmacol.* 66, 642-653 (1968)
- Thurlby, P.L. & Trayhurn, P.: *Pflügers Arch.* 385, 193-201 (1980)
- Tuman, R.W. & Doisy, R.J.: The influence of age on the development of hypertriglyceridemia and hypercholesterolaemia in genetically diabetic mice. *Diabetologia* 13, 7-11 (1977)
- Turner, M.L.: Hereditary obesity and temperature regulation. *Am. J. Physiol.* 152, 197-204 (1948)
- Trayhurn, P. & James W.P.T.: Thermoregulation and non-shivering thermogenesis in the genetically obese (ob/ob) mouse. *Pflügers Arch.* 373, 189-193 (1978)
- Trayhurn, P. & James W.P.T.: Thermogenesis and obesity. In *Mammalian thermogenesis* L. Girardier, M.J. Stock, Eds.: 234-258. Chapman and Hall, London (1983)

- Trayhurn, P., Thurlby, P.L. & James, W.P.T.: Proc. Nutr. Soc. 35, 133A (1976)
- Triandafillou, J., Himms-Hagen J.: Normal cold- but defective diet- induced activation of brown adipose tissue mitochondria in genetically obese (fa/fa) rats. AM. J. Physiol. 244, E145-E150 (1983)
- Truett, G.E., Bahary, N et al : Rat obesity gene fatty (fa) maps to chromosome 5: Evidence for homology with the mouse gene diabetes (db). Proc. Natl. Acad. Sci. 88, 7806-7809 (1991)
- Ungerstedt, U.: Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. Acta Physiol. Scand. suppl. 367, 95-122 (1971)
- Vallerand, A.L., Lupien, J. & Bukowiecki, L.J.: Interaction of cold-exposure and starvation on glucose tolerance and insulin response. Am. J. Physiol. 245, 227-232 (1983)
- Vaughan, R.W. & Conahan, T.J.: Cardiopulmonary consequences of morbid obesity. Life Sci. 26, 2119-2127 (1976)
- Volpe, J.J. & Marasa, J.C.: Regulation of hepatic fatty acid synthetase in the obese-hyperglycemic mutant mouse. Biochim. Biophys. Acta 409, 235-248 (1975)
- Wade, G.N.: Gonadal hormones and behavioral regulation of body weight. Physiol. Behav. 8, 523-534 (1972)
- Wallis, R.L.: Responses to low temperatures in small marsupial animals. J. Thermal Biol. 4, 105-111 (1979)
- Webb, P., Annis, J.F. & Troutman, S.J.: Human calorimetry with a water cooled garment. J. Appl. Physiol. 32, 412-418 (1972)
- Weiner, N., Perkins, M. & Sidman, R.L.: Effect of reserpine on noradrenaline content of innervated and denervated brown adipose tissue of the rat. Nature 193, 137-138 (1962)
- Wiersinga, W.M., Modderman, P. & Touber, J.L.: The effect of  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenoceptor agonists and antagonists on the in vitro conversion of thyroxine into triiodothyronine. Horm. Res. 12, 346-347 (1980)
- Willms, B., Ben-Ami, P. & Soling, H.D.: Hepatic enzyme activities of glycolysis and gluconeogenesis in diabetes of man and laboratory animals. Horm. Metabol. Res. 2, 125-141 (1970)
- Wise, P.H.: Significance of anomalous thermoregulation in the prediabetic spiny-mouse (*Acomys cahirinus*): Oxygen consumption and temperature regulation. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 55, 463-473 (1977)
- Wisén, O., Rössner, S. & Johansson, C.: Gastric secretion in massive obesity. Evidence for abnormal response to vagal stimulation. Digest. Dis. Sci. 32, 968-972 (1987)
- Woo, R. & Pi-Sunyer, F.X.: Effect of increased physical activity on voluntary intake in lean women. Metabolism 34, 836-842 (1985)
- Yamamoto, S. & Ogura, Y.: Variations in heart rate and relationship between heart rate and heat production of breeding Japanese Black Cattle. Japan. J. Livestock Managem. 20, 109-118 (1985)
- Yamashita, S. & Melemed, S.: Effects of insulin on rat anterior pituitary cells. Inhibition of growth hormone secretion and mRNA levels. Diabetes, 35, 440-445 (1986)

- Yen, T.T. & Acton, J.M.: Locomotor activity of various types of genetically obese mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 140, 647-650 (1972)
- Yen, T.T., Allan, J.A., Lu, P.L., Acton, M.A. & Pearson, D.V.: Triacylglycerol contents and in vivo lipogenesis of ob/ob, db/db and A<sub>v</sub>/a mice. *Biochim. Biophys. Acta* 441, 213-220 (1976)
- Yen, T.T., Steinmetz, J. & Wolff, G.L.: Lipolysis in genetically obese and diabetes-prone mice. *Horm. Metab. Res.* 2, 200-203 (1970)
- Young, J.B. & Landsberg, L.: Suppression of sympathetic nervous system during fasting. *Nature* 196, 1473-1475 (1977a)
- Young, J.B. & Landsberg, L.: Stimulation of the sympathetic nervous system during sucrose feeding. *Nature* 269, 615-617 (1977b)
- Young, J.B., Saville, E., Rothwell, N.J., Stock, M.J. & Landsberg, L.: Effect of diet and cold exposure on norepinephrine turnover in brown adipose tissue in the rat. *J. Clin. Invest.* 69, 1061-1071 (1982)
- York, D.A. & Bray, G.A.: Regulation of water balance in genetically obese rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 136, 798-801 (1971)
- York, D.A. & Bray, G.A.: Dependence of hypothalamic obesity on insulin, the pituitary and the adrenal gland. *Endocrinology* 90, 885-894 (1972)
- York, D.A. & Bray, G.A.: Adipose tissue metabolism in six week old fatty rats. *Horm. Metab. Res.* 5, 355-360 (1973)
- York, D.A. & Godbole, V.: Effects of adrenalectomy on obese "fatty" rats. *Horm. Metab. Res.* 11, 646-650 (1979)
- York, D.A., Marchington, D., Holt, S.J. & Allars, J.: Regulation of sympathetic activity in lean and obese Zucker (fatty) rat. *Endocrin. Res. Commun.* 5, 189-193 (1978)
- Yukimura, Y., Bray, G.A.: Effects of adrenalectomy on thyroid function and insulin levels in obese (ob/ob) mice. *Proc. Soc. Biol. Med.* 159, 364-367 (1978)
- Zed, C.A. & James, W.P.T.: The thermic response to fat feeding in lean and obese subjects. *Proc. Nutr. Soc.* 41, 32A (1982)
- Zucker, L.M. & Zucker, T.F.: Fatty, a new mutation in the rat. *J. Nutr.* 80, 275-278 (1961)

**BLOC I**

**Estudi d'efectes termogènics de la ingesta**



### THE THERMOGENIC EFFECT OF A SUCROSE GAVAGE ON THE fa/fa RAT

I. Rafecas, T. Domènech, M. Esteve,  
X. Remesar, J.M. Argilés, M. Alemany

Departament de Bioquímica i Fisiologia, Universitat de Barcelona,  
Barcelona Spain

#### ABSTRACT

The heat production of homozygous fa/fa and +/- Zucker rats as well as that of Wistar control adult female rats was estimated with a direct chamber calorimeter, after a gavage of 5.2 mmoles of sucrose given with a stomach cannula. The effects of mild food deprivation (12 hours) affected the thermic response to the gavage. Obese fa/fa rats had very low basal metabolic rates, increasing very little with dietary state or gavage. Lean +/- rats had basal rates comparable to those of Wistar rats and showed a higher effect of gavage in the food deprived state. Wistar rats had a comparable, albeit magnified, pattern. Zucker rats increased their thermogenesis with gavage with a deep decrease following suit. It is postulated that the deficient thermogenic apparatus of fa/fa rats prevented them showing a diet induced thermogenesis after forced sucrose feeding. Both lean Zucker (+/-) and Wistar rats showed a marked thermogenic response to the sucrose gavage, which was somewhat less pronounced in the Zucker lean rats.

Key words: obesity, thermogenesis, calorimetry, fa/fa rats, diet-induced thermogenesis, sucrose.

#### INTRODUCTION

Diet induced thermogenesis is elicited by the ingestion of food both in rodents [1] and humans [2]. Diet induced thermogenesis has two main fixed components: one is a consequence of the heat generated by the digestive processes, the other being an adaptive component of non-shivering thermogenesis [3]. There is a direct relationship between the nature of the meal ingested and the generation of heat [4]; sugars eliciting, in general, significant thermogenic responses [5,6].

Sucrose has been often considered a significant contributor to the development and maintenance of obesity [7,8], however, it elicits a considerable diet induced thermogenesis in most experimental setups [9]. This thermic effect of sucrose is partly counteracted by its easy incorporation into fat, especially the fructose moiety [8], both in "in vivo" and "in vitro" [10].

There is some degree of uncertainty regarding the real thermic effect of sucrose ingestion, since this has been related to the availability of other dietary components [11]. It has been postulated that in obesity states there is a dimin-

shed thermic response to food ingestion [12]. The lowered ability to generate heat observed in some obesities, such as in Zucker fa/fa rats [13], suggests that their thermogenic apparatus is incomplete or lacks some key regulatory element in the control pathway [14], the result being a defective heat response to food ingestion.

Our aim has been to determine the actual effect of food (sucrose) ingestion on whole body thermogenesis in the rat. We have used a sensitive direct calorimeter, with small thermic inertia, to evaluate the heat production in the prandrial state induced by the administration of a gavage of sucrose in water, and to compare this thermic effect with that observed in a post-prandrial state. The main objective of the study has been to determine the actual ability of fatty fa/fa rats to generate heat as a response to food ingestion compared with lean counterparts and rats from another common strain.

#### MATERIALS AND METHODS

The rats used have been: a) Wistar albino rats, b) fatty Zucker (fa/fa) rats, and c) lean Zucker (+/+) rats. All animals were female and were used at the age of c. 8 weeks, when they weighed a mean ( $\pm$  s.e.m.)  $203 \pm 12$  g,  $360 \pm 9$  g, and  $253 \pm 4$  g respectively for groups a, b, and c. The +/+ genotype was detected by crossing the lean Zucker rats with proven fa/+ animals and checking the descendance for the fa/fa phenotype.

Except when they were being studied, the animals were kept in an animal room with uniform temperature (21-22 °C), humidity (70-75 %), light cycle (on from 08.00 to 20.00 hours) and housing conditions (polypropylene-bottomed cages with wood shavings as bedding material). The animals were fed a standard pellet diet (type AC4 from Panlab, Barcelona) and had free access to tap water.

The calorimeter used was a model developed in our laboratory [15]; the working temperature was 25 °C (with a maximum deviation of  $\pm 0.5$  °C), and the air influx was maintained at  $5 \text{ ml}\cdot\text{s}^{-1}$  at 1 atm. The calibration of the instrument was done by using thin metal recipients containing a known amount of water at 37-39 °C and determining the net loss of heat from this mass and the response observed in the recorder [15]. All heat production measurements were expressed in  $\text{mW}\cdot\text{g}^{-0.75}$ . The exponent relating body weight and metabolic rate was selected from the literature [16] as that better adapted for animals this size, in agreement with the law of surfaces [17].

Each group of rats (N=4), was handled and accustomed to the experimental procedure prior to the actual calorimetric studies in order to minimize the effects of change of environment. All calorimetric estimations began at the same hour (10.00). The procedure followed in all cases was to keep the rat for one hour in the calorimeter, taking it out and then gently administering them 2.0 ml of a 2.6 M sucrose solution in water (i.e. 5.2 mmoles of sucrose) by means of a stomach cannula. The rat was then left again in the calorimeter and the heat production was measured during the subsequent period of four to five hours.

The experiment was repeated several days later using the same animals after removing all food from the cage 12 hours prior to the beginning of the experiment [food-deprived group]. The animals were also used for the estimation of the basal heat production under fed conditions; in this experiment they were maintained for a period of eight hours in the calorimeter.

The integration of the heat produced by the animals from the sensitive and changing patterns observed was done by selecting time-spans of 20 minutes and taking a mean measurement for each period. The initial periods of habituation to the environment were not taken into account, nor the minutes immediately after the gavage, giving time to the animal to regain their usual state and the instrument to



stabilize again.

The statistical evaluation of differences was established by means of a two-way analysis of variance; individual differences for a given time between fed and food-deprived situations were determined with the Student's *t* test. In all cases a *p* value < 0.05 was taken as limit of statistical significance.

### RESULTS

In table 1 the basal heat production by rats of the three groups selected are presented. Wistar rats and +/+ Zucker rats had higher basal metabolic rates than those of obese fa/fa rats. The effects of sucrose gavage on heat production by the Wistar and Zucker fa/fa and +/+ rats, both in the fed and food deprived situations, are presented in figure 1. In all Zucker rats the pattern of heat production after gavage resulted in a short increase over the basal values followed by a drop in heat production. Two to three hours after the gavage there was another slow increase in heat production that stabilized near the basal values. In Wistar rats, the pattern was similar, but the overall trend was a sharp increase followed by a decrease to the basal levels following a saw-teeth development.

The patterns observed in the fed or food deprived states were very much coincident, differing mainly in the level at which they took place in relation to the basal line. In obese fa/fa rats there was a significant difference between both dietary situations, and between food deprived and basal states. However, they showed a high degree of coincidence both in levels and pattern. The +/+ rats showed a more marked difference of level of heat production between both dietary status, the differences between both graphs being statistically significant, but no significant differences between matching points were found as in the fa/fa rats. The Wistar controls showed a very wide difference in levels of heat production in the fed and food deprived situations; the differences between both groups being significant overall with some differences observed between matching points of the graph just after gavage. The food deprived situation graph showed a slow but marked trend towards the basal line.

TABLE 1

Mean Basal Heat Production by Zucker and Wistar Adult Female Rats  
Effect of a Sucrose Gavage on Overall Heat Production

Group	Basal heat production	mean heat production after gavage	
		fed	food-deprived
Zucker fa/fa	21.4 ± 0.5	21.2 ± 0.3	20.6 ± 0.3 cd
Zucker +/+	28.6 ± 0.6 a	27.3 ± 0.3	23.3 ± 0.3 cd
Wistar	27.2 ± 0.3 a	29.7 ± 0.4 b	22.5 ± 0.4 cd

All figures are expressed in mW·g<sup>-0.75</sup> and are the mean of 4 different animals studied in a 8 hours period (basal heat production) or during the 4½ (Wistar) or 3½ (Zucker) hours, after a sucrose gavage. The mean heat production data are the integrated mean of the graphs presented in figure 1. Statistical significance of the differences between groups (all symbols represent a *p* < 0.05): [a] basal heat production differences versus the Zucker fa/fa group; [b] gavage-fed versus basal; [c] gavage-fed food-deprived versus gavage-fed; [d] gavage-fed food-deprived versus basal.

### DISCUSSION

The obese Zucker rats (fa/fa) have a defective thermogenic capability [13], that affects their response to a cold temperature. This lower ability to generate heat to front adverse environmental conditions seems to be extensible—from the data presented—to the adaptive thermogenesis responsible of the disposal of

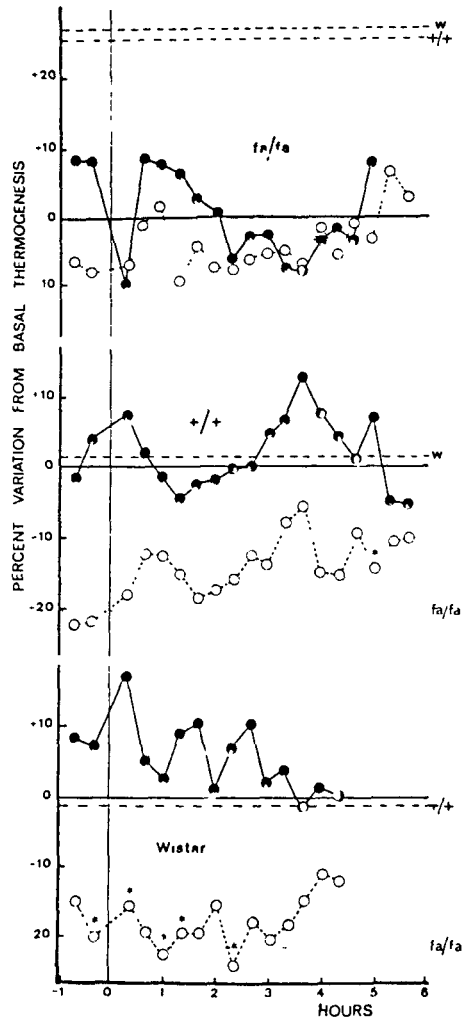


FIGURE 1

**Heat Production by Zucker and Wistar Rats  
Following the Administration of a Sucrose Gavage**

The data are the means of four measures and represent the heat production of the rat expressed as a percent value of the basal thermogenic activity of the corresponding group of rats. For additional information, the relative situation of the basal values for the other groups studied has been included in each graph. Black circles correspond to the fed state and the white ones to the food deprivation situation. The vertical line indicates the moment of the gavage, and the data represent consecutive 20-minute means of heat production.

The statistical significance of the comparisons between dietary groups and versus the basal state are presented in table 1. The asterisks indicate the statistical significance ( $p < 0.05$ ) in the points indicated between the fed and food deprived situations.

excess energy ingested. The obese fa/fa rats accumulate an inordinate amount of fat reserves as a consequence of impaired thermogenesis [18] and, possibly, because of other concurring metabolic and endocrine alterations [19].

The low basal heat production observed in obese fa/fa rats is in agreement with earlier estimations of their low basal metabolic rate [20] and agree with their impaired ability to generate heat and to maintain their own body temperature [21]. The +/+ lean Zucker rats showed a somewhat limited ability to generate heat, at least compared with Wistar rats. These animals showed lower differences between the food deprived and fed states than the Wistar rats, suggesting that diet induced thermogenesis did not play to full extent the adaptive role played in Wistar rats. The fa/fa rats showed much less marked differences between both states, with a basal level very close to that of the food deprived Wistar rats.

The Wistar rats showed a powerful ability to switch on/off their diet induced thermogenesis, as shown by their wide gap between both dietary conditions; in this aspect, the lean +/+ rats seem to have this capability partially impaired, as they showed smaller differences between both diet situations. Nevertheless their ability appeared to be enough to maintain their body weight despite normal food intake [22].

In all groups studied there was a slight transient increase in heat production immediately after gavage. This is in agreement with the known thermic effect of sucrose [9]. However, the extent and intensity of this peak was much smaller than expected. The effect of a gavage of water or saline resulted in the generation of a comparable, albeit smaller and much shorter, heat peak. This is in part probably due to the catecholamine release associated with the stress of handling of the rat during the administration of the gavage.

After the initial rise in heat production there was, in all cases, a sharp decrease in thermogenesis. This can be tentatively explained as a consequence of the intestinal absorption of the glucose and fructose evolved from the hydrolysis of sucrose, that would induce the release of insulin [23,24]. The resulting higher levels of insulin would help to drive the glycaemia down by increasing tissue glucose uptake [25]. This will, in some way, prevent the wasting of the nutrient ingested. The increase in circulating insulin would result in lowered thermogenesis [26,27], partially explaining the drop in heat production. This situation is transient because the increased availability of sugar results in the fulfilling of the energetic needs of the animal, with the result that part of the dose administered exceeds the needs and must be eliminated through its adaptive conversion into heat. This seems to be the rule—in the fed state—in all lean groups studied, which finally generated more heat than in the basal situation. The heat production (mean of the 5 hours after gavage) for Wistar and lean +/+ rats in the fed state given a load of 5.2 mmoles of sucrose are presented in table 1. The Wistar figure was significantly higher than in the basal state, but that of lean Zucker rats was not different from that basal level. The obese fa/fa rats had a mean heat production in the fed state, that again was not different from the basal figure. It can be concluded, thus, that a sucrose gavage in the fed state failed to increase the basal thermogenesis of the obese Zucker rats, however increasing those of Wistar rats, despite the initial drop in heat production described above. This draws the prompt suggestion that the energy administered to these animals in the form of sucrose will be more likely incorporated into the body components of obese rats, in this was differing somewhat from the other (lean) groups studied in which there was a clear (albeit limited in the case of +/+ rats) thermic effect; in both cases, the gavage helped to regain, at least partially, the basal heat production rate.

The results presented show that the obese fa/fa rats have a defective diet induced thermogenesis, and the lean +/+ animals have a somewhat reduced thermogenic response compared with that of Wistar rats. When the animals were subjected to a short (12 hours) period of food deprivation, their metabolic rate changed drasti-

cally (Wistar rats), less so (lean Zucker +/- rats) or showed only minimal changes (obese Zucker fa/fa rats). It can thus be concluded that a sucrose gavage can elicit a significant increase in diet induced thermogenesis on a long period of time provided that the animal retains a full thermogenic capability.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by grants from the "Dirección General de Investigación Científica y Técnica" from the Government of Spain (PB86-0512) and the "Instituto de Estudios Documentales del Azúcar".

#### REFERENCES

1. Stirling, GJL, Stock MJ. Metabolic origins of thermogenesis induced by diet. *Nature* 1968; **23**: 801-802
2. Sims EAH. Experimental obesity. Dietary-induced thermogenesis and their clinical implications. *Clin. Endocr. Metab.* 1976; **5**: 377-395
3. Trayhurn P, James WPT. Thermogenesis: Dietary and non-shivering aspects. In: Cioffi A, James WPT van Itallie TB eds. *The body weight regulatory system: normal and disturbed mechanisms*. New York: Raven Press 1981: 97-105
4. Swaminathan R, King RFGJ, Holmfield J, Siwek RA, Baker M, Wales JK. Thermic effect of feeding carbohydrate, fat, protein and mixed meal in lean and obese subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 1985; **42**: 177-181
5. Ingram DL, Dauncey MJ. Carbohydrate-induced thermogenesis and its modification by the  $\beta$ -blocker propranolol. *Comp. Biochem. Physiol. C* 1984; **77**: 23-27
6. Macdonald I. Differences in dietary induced thermogenesis following ingestion of various sugars. *Ann. Nutr. Metabol.* 1986; **28**: 226-230
7. Scalfani A, Xenakis S. Sucrose and polysaccharide induced obesity in the rat. *Physiol. Behav.* 1984; **32**: 169-174
8. Kanarek RB, Orthen-Gambill N. Differential effects of sucrose, fructose and glucose on carbohydrate-induced obesity in rats. *J. Nutr.* 1982; **112**: 1546-1554
9. Young JB, Landsberg L. Stimulation of the sympathetic nervous system during sucrose feeding. *Nature* 1977; **269**: 615-617
10. Sharief NN, Macdonald I. Different effects of various carbohydrates on the metabolic rate in rats. *Ann. Nutr. Metabol.* 1982; **26**: 66-72
11. Kanarek RB, Aprille JR, Mirsch E, Gualtiere L, Brown CA. Sucrose-induced obesity: effect of diet on obesity and brown adipose tissue. *Am. J. Physiol.* 1987; **253**: R158-R166
12. James WPT, Trayhurn P. Thermogenesis and obesity. *Brit. Med. Bull.* 1981; **37**: 43-48
13. Triandafillou J, Himms-Hagen J. Brown adipose tissue in genetically obese (fa/fa) rats. Response to cold and diet. *Am. J. Physiol.* 1983; **244**: E145-E150
14. Bazin R, Eteve D, Lavau M. Evidence for decreased GDP binding to brown adipose tissue mitochondria of obese Zucker (fa/fa) rats in the very first days of

- life. *Biochem. J.* 1984; 221: 241-245
15. Domènech T, Rafecas I, Esteve M, Argilés JM, Alemany M. A sensitive direct calorimeter for small mammals. *J. Biochem. Biophys. Meth.* 1988; 17: 35-42
  16. Gray BF. On the "surface Law" and basal metabolic rate. *J. Theor. Biol.* 1981; 93: 757-767
  17. Hemmingsen AM. Energy metabolism as related to body size and respiratory surfaces, and its evolution. *Rep. Steno Mem. Hosp. Nordisk Insulinlab.* 1960; 9: 1-110
  18. Radcliffe JD, Webster AJF. Sex, body composition and regulation of food intake during growth in the Zucker rat. *Brit. J. Nutr.* 1978; 309: 483-492
  19. Fletcher JM, Haggarty P, Wahle KWJ, Reeds PJ. Hormonal studies of young lean and obese Zucker rat. *Horm. Metabol. Res.* 1986; 18: 290-295
  20. Kaplan ML. Consumption of  $O_2$  and early detection of fa/fa genotype in rats. *Metabolism* 1979; 28: 1147-1151
  21. Kaul R, Schmidt I, Carlisle H. Maturation of thermoregulation in Zucker rats. *Int. J. Obesity* 1985; 9: 401-409
  22. Zucker LM, Zucker TF. Fatty, a new mutation in the rat. *J. Hered.* 1961; 52: 275-278
  23. Kergoat M, Bailbé D, Portha B. Effect of high sucrose diet on insulin secretion and insulin action: a study in the normal rat. *Diabetologia* 1987; 21 (suppl.2): 606-616
  24. Louis-Sylvestre J. Preabsorptive insulin release and hypoglycemia in rats. *Am. J. Physiol.* 1976; 230: 56-60
  25. Kipnis DM. Nutrient regulation of insulin secretion in human subjects. *Diabetes* 1972; 21: 606-616
  26. Nedergaard J, Lindberg O. The brown fat cell. *Int. Rev. Cytol.* 1982; 74: 187-287
  27. Bukowiecki LJ. Regulation of energy expenditure in brown adipose tissue. *Int. J. Obesity* 1985; 9 suppl.2: 31-42

Accepted for publication July 27, 1989.



Reçu le 17 juin 1991.

## Dietary sucrose supplementation fails to modify fat deposition in lean or obese rats.

BY  
M. ESTEVE, I. RAZEFAS, X. REMESAR and M. ALEMANY

(Departament de Bioquímica i Fisiologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain)

(2 figures)

The effects of sucrose supplementation on body composition and heat production were studied in lean, dietary (cafeteria diet) and genetically obese (Zucker fa/fa) adult (60 days) rats. Sucrose supplement (29 kJ) for 10 days did not result in significant changes in the pattern of energy (fat) deposition or carcass composition. There were no alterations, either, in heat production measured by direct calorimetry. Under the conditions studied, sucrose intake did not affect lipid deposition or thermogenesis.

## Introduction

There is widespread belief that dietary sucrose induces fat-accretion (KANAREK & ORTHEN-GAMBILL, 1982; SCLAFANI & XENAKIS, 1984). However, available scientific information, despite its abundance, contains conflicting evidence (RAMIREZ, 1987). Studies carried out in humans and rodents alike show that sucrose has a high lipogenic potential (REISER & HALLFRISCH, 1977; HALLFRISCH *et al.*, 1978; MICHAELIS *et al.*, 1980), in part because of the effect of readily absorbable sugars upon insulin secretion (LOUIS-SYLVESTRE, 1976; HALLFRISCH *et al.*, 1979; KERGOAT *et al.*, 1987), but also because of the presence of the fructose moiety (KANAREK & ORTHEN-GAMBILL, 1982) and the "disaccharide" effect (RAMIREZ, 1987). On the other hand, several studies have shown a significant increase in diet-induced thermogenesis caused by sucrose administration (ROTHWELL & STOCK, 1984; KANAREK *et al.*, 1987).

These conflicting results can partially be explained by the use of very different human and animal models, especially the utilization of rats of different ages, *i.e.* during their growth to adulthood, when their body weight and fat storage could be affected by dietary manipulation (CASTELLÀ *et al.*, 1986; RAMIREZ, 1987), as well as by the utilization of large amounts of sugar (in relation to overall diet) (RAMIREZ, 1987). The aim of this study is to determine the effects of repeated doses of sucrose, at a level in the range of 7.5% of the energy intake [the mean added sucrose intake of some Western human populations is in the 6-10% of the ingested energy range (GLINSMANN *et al.*, 1986)], upon both adult rat heat production and energy (mainly fat) storage. We used genetically obese rats (Zucker fa/fa) as well as lean counterparts of two different strains (Wistar and Zucker Fa/?), and compared the effects of sucrose gavages with those of a high-energy high-

fat self-selecting cafeteria diet (PRATS *et al.*, 1989) and control rat chow.

## Materials and Methods

## Animals :

Three groups of rats, all female and aged 60 days, were used in this study : A) Wistar rats (bred at the University of Barcelona Animal Service from original Charles River France stock), B) Lean Zucker (Fa/?) rats and C) Obese Zucker rats/were bred from Harlan-Olac (UK) parents.

The rats were kept individually in polypropylene-bottomed cages with wood shavings as absorbent material. The cages were housed in a light (on from 08 to 20), humidity (70-80 % relative humidity) and temperature (21-22 °C) controlled environment.

## Dietary treatment :

Control rats were fed commercial pellets (type A03 from Panlab, Barcelona) and tap water *ad libitum*. The rats given the cafeteria diet were presented daily with a fresh offering of cookies spread with liver pâté, bacon, banana, chow pellets (as indicated above), tap water and whole milk complemented with 333 g/l sucrose plus 10 g/l of a mineral and vitamin supplement (Gevral, Cyanamid Ibérica). All the materials were presented in excess. This diet is a simplified version of an earlier cafeteria diet developed and studied by us (PRATS *et al.*, 1989), scaled down by including only those items consumed in significant portions. The animals were weighed at the same time (11-12) every day.

## Experimental setup :

The three groups defined : Wistar, lean Zucker and obese Zucker were studied under two dietary conditions:

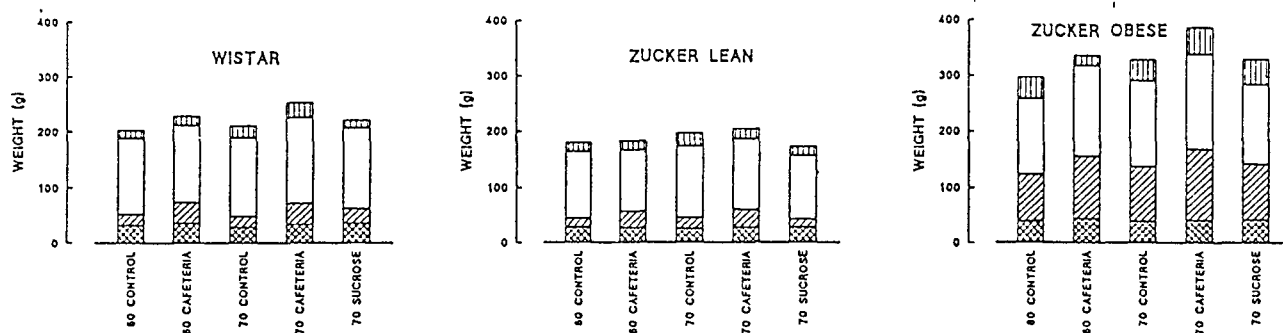


FIG. 1. Body composition of Wistar and Zucker rats subjected to cafeteria diet and sucrose gavage. The columns represent the mean composition of 5-6 different rats. The columns labelled '60' correspond to rats 60 days old and those labelled '70' to 70-day old rats. Controls always received the pellet and tap water. Cafeteria rats received the cafeteria diet from day 30 onwards. Sucrose rats received the control diet and were given a daily 1.78 g (2 ml) sucrose gavage from day 60 to day 70. Controls and cafeteria rats received a daily gavage of NaCl 9 g/l (2 ml) from day 60 to day 70. The crossed bottom zone corresponds to protein content, the dashed zone corresponds to the lipids, the white area to water and the uppermost zone, with vertical stripes indicates the 'other components'. Carbohydrate is presented as a thin black line between lipid and water. The s.e.m. for the different fractions is not shown, for clarity.

A three-way ANOVA was performed (Factors : Strain, Diet and Time) and the Scheffé test was used to compare the differences between groups. The values obtained were the following :

Three-way ANOVA : factors :	variables : Water	Protein	Lipid	Carbohydrate	
Strain	$F_{(2,72)} = 49.7$ $P \leq 0.0001$	$F_{(2,72)} = 123.3$ $P \leq 0.0001$	$P \leq 0.0001$	$F_{(2,72)} = 1404$ $P \leq 0.0001$	$F_{(2,72)} = 181.7$
Diet	$F_{(2,72)} = 4.21$ $P = 0.0186$	$F_{(2,72)} = 5.73$ $P = 0.0049$	$F_{(2,72)} = 77.4$ $P \leq 0.0001$	$F_{(2,72)} = 85.1$ $P \leq 0.0001$	
Time	$F_{(1,72)} = 8.91$ $P = 0.0039$	$F_{(1,72)} = 1.47$ $P = 0.2292$	$F_{(1,72)} = 6.08$ $P = 0.161$	$F_{(1,72)} = 203.6$ $P \leq 0.0001$	

Practically all paired comparisons between strains (Scheffé test) were significantly different ( $P \leq 0.05$ ); the comparisons of water content showed the lowest degree of statistical significance. The paired comparisons for the diet showed significant differences between groups for lipid and carbohydrate content, but there were no differences as to protein and water. The comparisons done along the time scale showed only significant differences for the carbohydrate content.

controls (fed rat chow pellets and water) and cafeteria (receiving the cafeteria diet). For every stock and diet group, a series of 5-7 rats was killed on day 60 (after 30 days of dietary treatment), another series was killed on day 70 (40 days of dietary treatment). A third control fed series of rats was also killed on day 70, but from days 60 to 70 received a daily supplement of sucrose (0.5 moles, *i.e.* 1.71 g in a volume of 2 ml) administered as gavage with a plastic tube.

Heat production was measured every two days (except control diet-fed groups, in which heat production was measured daily) from day 60 to day 70, the rats were introduced every day (after gavage, administered at 10 h) into a chamber calorimeter (DOMÈNECH *et al.*, 1988) where their heat production was measured for 5 h (from 10 to 15 hours). The measurements were expressed in W, or in  $W/g^{0.75}$  after the introduction of an allometric correction for body size (HEMMINGSSEN, 1960) in order to facilitate the comparison of the data with those of other groups of different size or strain (GRAY, 1981).

On days 60 or 70, the allotted groups of rats were weighed and immediately killed by decapitation. Their corpses were again weighed (the difference being the net loss of blood) and then dissected. Their intestinal content was taken out and weighed. The remaining

carcass was then minced and ground with a blender and stored frozen at  $-22^{\circ}\text{C}$  until processing.

A series of animals from each group (Wistar, Zucker Fa/? and Zucker fa/fa, either fed a control or cafeteria diet) were studied as to the effect on heat production of sucrose or oil (isocaloric, 29 kJ). The gavages were given with a two day interval to groups of 5 rats, beginning — on day 60 — with a control acaaloric saline solution (NaCl 9 g/l, 2 ml), followed by sucrose (2 ml, 1.78 g) or olive oil (0.9 ml).

#### Analytical procedures

The frozen ground carcasses were sampled (c. 2 g per sample in four separate bits). The samples were then homogenized with a Politron (*Poly Mixer*); the resulting paste was then analyzed. The constituents of the diets given to the animals were ground and homogenized, and then subjected to the same analyses as the samples of rat carcass.

The water content of the carcasses was estimated by differential weighing after drying the samples at  $110^{\circ}\text{C}$  for 24 hours. Whole carbohydrate content in the samples was measured with an anthrone method (FRAGA, 1956), after alkaline digestion (GOOD *et al.*, 1933). Protein was measured in the alkaline digests with



a Folin phenol reagent method (LOWRY *et al.*, 1951); the samples were cleaned of fat with solid MgO. Total lipids were estimated gravimetrically from the chloroform : methanol extracts (FOLCH *et al.*, 1957).

The blood of a series of animals was collected in dry heparinized beakers and subjected to the analytical procedures outlined above to measure water, carbohydrate, lipid, and protein content per g of blood. These figures were used to calculate the *in vivo* content of water, protein, carbohydrate and lipid of the animals, from the live weight, intestinal content, and weight of the ground carcass, assuming that the difference was blood lost in the killing and dissection procedures.

Standard energy equivalences of carbohydrates, (17.5 kJ/g), fat (39.6 kJ/g) and protein (18.6 kJ/g) (BROWER, 1965) were used for the calculation of nominal food energy content as well as for the estimation of metabolizable energy deposited in the carcasses.

Statistical comparison between groups were performed with three- or two-factor ANOVA complemented with the Scheffé test (DIXON & BROWN, 1983). A  $P < 0.05$  limit of significance was used throughout.

## Results

Figure 1 presents the weight and body composition of Wistar and Zucker rats fed on control, cafeteria and sucrose-supplemented diets. Zucker obese rats were larger than the lean Zucker or Wistar counterparts for all age and dietary treatment groups. The body composition of different strain showed significant differences, especially when referred to lipid, protein and glucid content. Thus, Zucker fatty rats (fa/fa) contained more lipid than lean Zucker or Wistar. The differences detected in water content were even less marked than those described. The changes detected along time were not specially significant, the differences being significant only when the carbohydrate content was compared. The accumulated effects of dietary treatment were somewhat more apparent, since the rats treated with cafeteria diet showed a higher lipid content than the animals treated with control diet, plain or supplemented with sucrose, the differences being significant for all lean rats, but not for the Zucker fa/fa animals.

The increases in body weight were very pronounced when strains were compared; thus Zucker fa/fa rats grew more than their lean counterparts and Wistar. Cafeteria fed animals showed a tendency (not significant) to grow more than control or sucrose-fed ones.

In almost all groups there was a significant decrease in glucid content from day 60 to 70, which is independent of diet but dependent on strain, since Zucker fa/fa show more marked decreases than Zucker lean or Wistar. The deposition of lipid was much higher in the Zucker fa/fa rats than in the lean controls. In Wistar rats, the deposition of lipid was maximal in the sucrose-fed group, whereas in Zucker Fa/? this lipid deposition was minimal. The net protein balance was very variable, with losses in Wistar rats, except for a slight gain in the sucrose-supplemented animals. The lean Zucker rats also lost some protein with the control diet, showed no changes with cafeteria diet and a small net

deposition in the sucrose-treated rats. A comparable pattern was observed in Zucker fa/fa rats, with a nil change for control diet, negative balance for cafeteria treatment and a significant net gain with sucrose treatment. The changes in water content followed the overall pattern of body weight change, except for a smaller increase in obese cafeteria-fed rats.

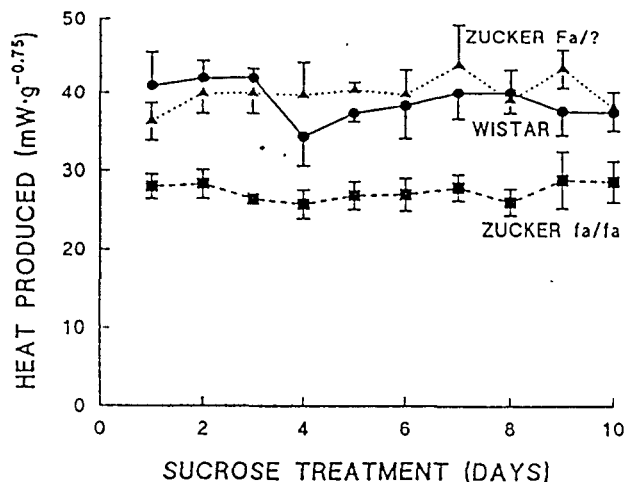


Fig. 2. Heat released by Wistar and Zucker rats subjected to a daily gavage of sucrose. Each point is the mean  $\pm$  s.e.m. of 5-6 different animals. The statistical analysis of the data (2-way ANOVA) showed that there was not a significant effect of the 'time' factor ( $F = 1.66$ ;  $P = 0.0964$ ). There was a significant effect of 'group' ( $F = 139.97$ ;  $P = 0.0000$ ). The Scheffé test showed that there were significant differences between groups ( $P < 0.01$ ) between obese Zucker (fa/fa) and either Wistar or lean Zucker (Fa/?) rats.

The mean heat production by the three types of rats subjected to daily sucrose gavages is presented in Figure 2. The heat generated is presented already corrected for the mass of the animal, so as to render the data comparable. There were statistically significant differences between all three strains of rats with respect to heat production. No statistically significant changes in heat production with time were observed in any of the three groups studied.

The heat released by experimental animals are shown in Table II. From these results, both strain and diet influenced this capacity, when expressed either in absolute values or after allometric correction. The significance was more marked between Zucker fa/fa rats and the other groups when allometric correction was used. The energy stored in the bodies of the rats during the 10-day period studied (60-70 d) is presented in Table II (resulting from the conversion into heat units of the data in Table I) expressed as a mean flow of energy for the whole period studied. The individual calculated results are presented in mW. The heat production data (direct calorimetry) are presented as a mean heat flow output in both absolute and allometrically corrected form. The sucrose figures are the means of those presented in Figure 2. The ratio of energy flow : stored versus heat released, shows the predominance of a different energy management pattern for obese and lean rats, with consistently higher figures for Zucker fa/fa rats than for Wistar or lean Zucker.

TABLE I. Weight and energy accretion in adult Wistar and Zucker rats given a sucrose gavage.

group	diet	increases in :				
		body weight g	carbohydrate g	lipid g	protein g	water g
Wistar	control	18.0 ± 2.9	-0.05 ± 0.01	2.17 ± 0.30	-2.73 ± 0.28	10.60 ± 1.86
	cafeteria	23.8 ± 3.7	-0.08 ± 0.01	0.67 ± 0.55*	-2.43 ± 0.47	15.19 ± 2.30
	sucrose	7.4 ± 2.1	-0.06 ± 0.00	6.20 ± 0.32▲○	1.98 ± 0.35▲○	0.37 ± 1.30○*
Zucker Fa/?	control	17.7 ± 3.0	-0.05 ± 0.00	3.91 ± 0.31	-2.89 ± 0.38	8.53 ± 1.92
	cafeteria	21.6 ± 2.1	-0.02 ± 0.02*	2.75 ± 0.53	0.41 ± 0.37■*	16.31 ± 2.01
	sucrose	11.5 ± 5.5	-0.10 ± 0.00○	0.19 ± 0.45■*	2.35 ± 0.90▲	7.62 ± 3.64*
Zucker fa/fa	control	40.5 ± 3.2■♦	-0.29 ± 0.02■♦	17.27 ± 0.73■♦	0.66 ± 0.60♦*	22.97 ± 1.28♦
	cafeteria	46.8 ± 2.1■♦	-0.16 ± 0.01■♦	13.96 ± 0.70■♦	-2.93 ± 0.47▲♦	6.26 ± 1.23▲
	sucrose	39.5 ± 6.2■♦	-0.25 ± 0.02■♦	18.56 ± 1.68■♦	3.24 ± 0.85○	11.27 ± 2.55
Statistical analysis of the differences between groups :						
Two way ANOVA :						
Strain *		F <sub>(2,38)</sub> = 44.6 P ≤ 0.0001	F <sub>(2,41)</sub> = 244.3 P ≤ 0.0001	F <sub>(2,42)</sub> = 328.8 P ≤ 0.0001	F <sub>(2,42)</sub> = 5.10 P = 0.0104	F <sub>(2,42)</sub> = 3.59 P = 0.0364
Diet		F <sub>(2,38)</sub> = 6.24 P = 0.0045	F <sub>(2,41)</sub> = 1.43 P = 0.2719	F <sub>(2,42)</sub> = 9.44 P = 0.0004	F <sub>(2,42)</sub> = 54.4 P ≤ 0.0001	F <sub>(2,42)</sub> = 10.4 P = 0.0002

All values are the mean ± s.e.m. of 5-6 different animals. The mean carcass composition of each group has been used for the calculations of component variation based on direct body weight changes in the 70-day group.

Statistical significance of the differences (Scheffé test) : ▲ = P < 0.05 versus control diet; ■ = P < 0.05 versus Wistar; ♦ = P < 0.05 obese versus lean Zucker; \* = P < 0.05 not different from zero; ○ = P < 0.05 sucrose versus cafeteria.

TABLE II. Energy stored and heat output of Wistar and Zucker rats fed a cafeteria diet and given daily a sucrose gavage.

group	diet	heat output W	heat output mW, g <sup>0.75</sup>	energy stored mW	energy ratio : stored/heat
Wistar	control	1.90 ± 0.12	35.4 ± 2.2	42	0.022
	cafeteria	2.79 ± 0.16▲	46.5 ± 1.6▲	-20	-0.007
	sucrose	2.20 ± 0.17	38.9 ± 3.0	325	0.148
Zucker Fa/?	control	1.61 ± 0.01	32.1 ± 0.8	116	0.072
	cafeteria	1.94 ± 0.19■	37.5 ± 3.7	122	0.063
	sucrose	1.83 ± 0.13	39.9 ± 2.8	57	0.031
Zucker fa/fa	control	1.88 ± 0.05	24.5 ± 0.7	800	0.425
	cafeteria	2.20 ± 0.05	27.0 ± 0.7■	571	0.259
	sucrose	2.03 ± 0.14	27.4 ± 1.9■♦	916	0.452
Statistical analysis of the differences between groups :					
Two way ANOVA					
Strain		F <sub>(2,43)</sub> = 11.6 P = 0.0001	F <sub>(2,11)</sub> = 40.1 P ≤ 0.0001		
Diet		F <sub>(2,43)</sub> = 12.1 P = 0.0001	F <sub>(2,43)</sub> = 7.97 P = 0.00012		

The values are the mean ± s.e.m. of 5-6 different animals. The heat output column corresponds to the mean values for the 10 day period presented in figure 1. The single figures have been calculated from data in figures 1 and 2.

Statistical significance of the differences (determined with Scheffé test) :

■ = P < 0.05 versus Wistar; ♦ = P < 0.05 obese versus lean Zucker; ▲ = P < 0.05 versus control.

The energy stored/ heat released ratio was small for lean rats, showing a considerable variability inconsistent with the dietary treatment, and was maximal for control diet in Zucker Fa/? and for sucrose-supplemented in Wistar rats.

## Discussion

The cafeteria diets selected by the rats contain a significant proportion of lipids (NAIM *et al.*, 1985; PRATS *et al.*, 1989). They induce both an increased fatty

acid metabolism and fat deposition (ROLLS *et al.*, 1980; ROTHWELL & STOCK, 1982; BARR & McCRACKEN, 1984; NAIM *et al.*, 1985; PRATS *et al.*, 1989), in a situation where a very large part of the excess energy ingested is eliminated through increased diet induced thermogenesis (ROTHWELL & STOCK, 1979, 1986). However, despite the increases in heat production, a significant portion of the excess energy ingested is deposited in the carcass, essentially in the form of fat depots (BARR & McCRACKEN, 1984; NAIM *et al.*, 1985). This effect of high energy (rich in lipids) self-selected diets is more marked in young animals, since their growth potentiates the deposition of fat (SALVADÓ *et al.*, 1986), but it is less evident in adult rodents, which become accustomed to the highly palatable diet and maintain high thermogenesis (RAFECAS *et al.*, 1989). The effects observed agree with this interpretation, since the net body weight deposition elicited by cafeteria diet or standard rat chow were not essentially different, with a comparable net flow of energy storage, despite higher heat output, at least in Wistar rats.

In lean Zucker rats, the situation was less clear, since the effects of the cafeteria diet both on the energy stored and on heat output were not different from those of control-fed animals. However, they shared very low ratios of energy stored *versus* heat output with the Wistar rats.

The administration of repeated sucrose gavages had no appreciable effect on the rates of heat output in any of the three series of animals studied, either compared with control-fed rats or when studied *versus* time. The storage of energy induced by the forceful administration of sucrose gave completely different results in Wistar (increased storage of lipid and protein but lower weight increase than controls and cafeteria-fed rats) and in lean Zucker animals, with lower lipid and higher protein deposition than the other two dietary groups.

The Zucker obese (fa/fa) rats present hyperphagia (RADCLIFFE & WEBSTER, 1978; HARRIS *et al.*, 1988) and very high deposition of fat (ZUCKER, 1975; RADCLIFFE & WEBSTER, 1978; PLANCHE *et al.*, 1983) with lower heat output (KAUL *et al.*, 1985; Rafecas *et al.*, 1989), since their thermogenic apparatus is defective (PLANCHE *et al.*, 1983; TRIANDAFILLOU & HIMMS-HAGEN, 1983; BAZIN *et al.*, 1984). When the heat production data are corrected for body size, the real (low) heat output of these animals becomes apparent. The administration of either a cafeteria diet or daily sucrose supplements did not result in either altered heat production or increased energy (lipid) accretion. These results contrast with previous reports suggesting a high lipogenic potential of sucrose (SHARIEF & MACDONALD, 1982), as well as with other reports suggesting a marked increase in diet-induced thermogenesis by sucrose administration (ROTHWELL & STOCK, 1984; RAFECAS *et al.*, 1989). The age of the subjects, as well as the proportion of sucrose in the diet, often higher than one half of the total energy ingested, seem to be the main elements which affect the actual fate of this substrate and its incidence on thermogenesis (RAMIREZ, 1987). The use of an adult rat model allows the discrimination of the actual effects of the dietary supplement (in analogy with the situation in humans both in age and

proportion of sugar in the diet) devoid of all collateral effects of growth rate, which can be deeply influenced by dietary components (SALVADÓ *et al.*, 1986).

The results presented suggest that the Zucker fa/fa rat intake is already modulated into a high setting, probably because the only heat available for the maintenance of body temperature is the residual metabolic heat (HIMMS-HAGEN, 1989); thus, the presence of a highly palatable diet did not add significantly to their already high food intake. The sucrose gavages were actually a 6.9% of the level of Zucker fa/fa rats energy intake found on day 60; they could add little to their already high energy availability. This may explain the apparent lack of effect of either cafeteria diet or sucrose supplements on these animals, despite the differences versus the lean (weight more stabilized) rats in weight increases during the 10-day study.

The forced administration of oil has shown that the lack of effect of sucrose on heat production is rather general, since isocaloric gavages resulted in a similar absence of effects upon thermogenesis.

The overall effect of sucrose supplementation of the diet, however, could be summarized in a practically total lack of significant effects on either lipid (energy) deposition or heat generation in either lean or obese adult rats. The results suggest that supplementation of the diet with sucrose will not result *per se* in either lipid accretion or in altered diet-induced thermogenesis at the levels of forced sucrose administration indicated.

*Acknowledgements.* — This work was supported by the grants from the *Dirección General de Investigación Científica Técnica* from the Government of Spain (PB86-0512), and from the *Instituto de Estudios Documentales del Azúcar*, as well as by a personal grant (I. RAFECAS) from the CIRIT of the Government of Catalonia. Thanks are given to Robin RYCROFT for his help in correcting and editing the manuscript.

## References

- BARR, H. G. & McCRACKEN, K. J. (1984) *Brit. J. Nutr.* 51, 379-387.  
 BAZIN, R., ETEVE, D. & LAVAU, M. (1984) *Biochem. J.* 221, 241-245.  
 BROWER, E. (1965) In: *Energy Metabolism*, K. L. BLAXTER, ed. Academic Press, London, pp. 441-443.  
 CASTELLÀ, J., IGLESIAS, R. & ALEMANY, M. (1986) *Comp. Biochem. Physiol. A* 85, 693-696.  
 DIXON, W. J. & BROWN, M. P. (1983) *BMDP Statistical software, 1983 printing with additions*. University of California Press.  
 DOMÉNECH, T., RAFECAS, I., ESTEVE, M., ARGILÉS, J. M. & ALEMANY, M. (1988) *J. Biochem. Biophys. Meth.* 17, 35-42.  
 FOLCH, J., LEES, M. & SLOANE-STANLEY, G. H. (1957) *J. Biol. Chem.* 266, 497-509.  
 FRAGA, F. (1956) *Invest. Pesquera* 3, 69-74.  
 GLINSQUINN, W. H., IRAUSQUIN, H. & PARK, Y. K. (1986) *J. Nutr.* 116 (suppl. 11S), S1-S216.  
 GOOD, C. A., KRAMER, H. & SOMOGYI, M. (1933) *J. Biol. Chem.* 100, 485-494.  
 GRAY, B. F. (1981) *J. Theor. Biol.* 93, 757-767.  
 HALLFRISCH, J., LAZAR, F. L. & REISER, S. (1978) *Nutr. Rep. Int.* 18, 359-367.  
 HALLFRISCH, J., LAZAR, F., JORGENSEN, C. & REISER, S. (1979) *Am. J. Clin. Nutr.* 32, 787-793.  
 HARRIS, R. B. S., TOBIN, G. & HERVEY, G. R. (1988) *J. Nutr.* 118, 503-514.  
 HEMMINGSEN, A. M. (1960) *Rep. Steno Men/11osp. Nordisk Insulinlab.* 9, 1-110.  
 HIMMS-HAGEN, J. (1989) *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 67, 394-401.  
 KANAREK, R. B. & ORTHEN-GAMBILL, N. (1982) *J. Nutr.* 112, 1546-1554.

- KANAREK, R. B., APRILLE, J. R., HIRSCH, E., GUALTILRE, L. & BROWN, C. A. (1987) *Am. J. Physiol.* 253, R158-R166.
- KAUL, R., SCHMIDT, I. & CARLISLE, H. (1985) *Int. J. Obesity* 9, 401-409.
- KERGOAT, M., BAILBE, D. & PORTHA, B. (1987) *Diabetologia* 21 (suppl. 2), 606-616.
- LOUIS-SYLVESTRE, J. (1976) *Am. J. Physiol.* 230, 56-60.
- LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. & RANDALL, R. J. (1951) *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- MICHAELIS, O. E., SCHOLTFELD, D. J., GARDNER, L. B. & CATALAND, S. (1980) *J. Nutr.* 110, 1409-1420.
- NAIM, M., BRAND, J. G., KARE, M. R. & CARPENTER, R. G. (1985) *J. Nutr.* 115, 1447-1458.
- PLANCHE, E., JOLIFF, M., DE GASQUET, P. & LE LIEPVRE, X. (1983) *Am. J. Physiol.* 245, E107-E113.
- PRATS, E., MONFAR, M., CASTELLÀ, J., IGLESIAS, R. & ALEMANY, M. (1989) *Physiol. Behav.* 45, 263-272.
- RADCLIFFE, J. D. & WEBSTER, A. J. F. (1978) *Brit. J. Nutr.* 309, 483-492.
- RAFECAS, I., DOMENECH, T., ESTEVE, M., REMESAR, X., ARGILES, J. M. & ALLMANY, M. (1989) *Nutr. Res.* 9, 1407-1413.
- RAMIREZ, I. (1987) *Appetite* 9, 1-19.
- REISLR, S. & HALLFRISCH, J. (1977) *J. Nutr.* 107, 147-155.
- ROLLS, B. J., ROWE, E. A. & TURNER, R. C. (1980) *J. Physiol.* 298, 415-427.
- ROTHWELL, N. J. & STOCK, M. J. (1979) *Nature* 281, 31-35.
- ROTHWELL, N. J. & STOCK, M. J. (1982) *Brit. J. Nutr.* 47, 461-471.
- ROTHWELL, N. J. & STOCK, M. J. (1984) *Metabolism* 33, 768-771.
- ROTHWELL, N. J. & STOCK, M. J. (1986) In: *Brown adipose tissue*, P. TRAYHURN & D. G. NICHOLLS eds., Edward Arnold, London, pp. 269-298.
- SALVADÓ, J., SEGUÍ, T., ALEMANY, M. & AROLA, LL. (1986) *Brit. J. Nutr.* 55, 139-147.
- SCLATANI, A. & XLNAKIS, S. (1984) *Physiol. Behav.* 32, 169-174.
- SHARIEF, N. N. & MACDONALD, I. (1982) *Ann. Nutr. Metabol.* 26, 66-72.
- TRIANDAHILLOU, J. & HIMMS-HAGEN, J. (1983) *Am. J. Physiol.* 244, E145-E150.
- ZUCKER, L. M. (1975) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 148, 498-500.

M. ALEMANY

Departament de Bioquímica i Fisiologia,  
Universitat de Barcelona  
Av. Diagonal, 645  
E-08028 Barcelona, Spain.

## The effect of cafeteria-feeding on energy balance in Wistar and in lean and obese Zucker rats

Immaculada Rafecas, Montserrat Esteve, Xavier Remesar and Marià Alemany

*Departament de Bioquímica i Fisiologia, Universitat de Barcelona 08071 Barcelona, Spain*

### SYNOPSIS

The carcass accretion of lipid, protein and carbohydrate was measured in Wistar, Zucker lean and Zucker obese rats fed controlled standard or cafeteria diets from days 30 to 60 after birth. In all groups the cafeteria diet induced a higher carcass energy deposition than the control diet, the effects being more marked in rats aged 45 to 60 days than in those aged 30 to 45 days. Obese Zucker rats deposited larger amounts of lipid than the other animals studied, due in part to a higher energy intake and increased efficiency of energy deposition. In all rats, cafeteria-feeding induced a relative increase in fat deposition as well as gains in gross weight and protein. The effects on body weight of cafeteria diet and genetic obesity were partly additive, suggesting a mechanism of influencing overall accretion of reserves and thus body weight, shared only in part. It is postulated that the Zucker *fa/fa* rats had to eat more as a way to produce enough residual metabolic heat to maintain their thermal homeostasis that takes precedence over energy homeostasis. This implies the accumulation of excess metabolites that finally find their way into body reserves.

### INTRODUCTION

The mechanism of control of food intake in

the rat is an essential element in the maintenance of energy homeostasis (Alemany, 1989). The tight adjustment of energy intake, however, can be considerably stretched when the animal is challenged with high energy and palatable diets (Sclafani & Springer, 1976; Friedman, 1984), such as the diets known under the generic denomination of 'cafeteria diet' (Sclafani & Springer, 1976; Rothwell & Stock, 1979). It has been established that the morsels of cafeteria diets selected by rats are rather uniform in their nutrient composition (Prats *et al.* 1989), cafeteria diets being unusually rich in fats (Naim *et al.* 1985; Prats *et al.* 1989). Ingestion of a cafeteria diet by young animals results in increases in both thermogenesis (Rothwell & Stock, 1979) and fat deposition (Rolls *et al.* 1980; Rothwell & Stock, 1982; Barr & McCracken, 1984; Naim *et al.* 1985), which is one reason why they have been considered acceptable models of bulimic human obesity (Sclafani & Springer, 1976). Cafeteria-fed rats have also been used as a physiological model for diet-induced thermogenesis (Rothwell & Stock 1979, 1986).

Allelic recessive mutant Zucker *fa/fa* rats are another widely studied model of

obesity (Zucker & Zucker, 1961; Bray, 1977). These animals have a defective thermogenic system (Godbole *et al.* 1978), which lowers their ability to survive cold exposure (Triandafillou & Himms-Hagen, 1983; Kaul *et al.* 1985), despite a high intake of energy (Radcliffe & Webster, 1978; Harris *et al.* 1988). Since the thermogenic apparatus of their brown adipose tissue is not fully functional (Triandafillou & Himms-Hagen, 1983; Planche *et al.* 1983; Bazin *et al.* 1984), it has been postulated that they do not present diet-induced thermogenesis, and thus deposit a significant part of their available energy in the form of fat (Zucker, 1975; Radcliffe & Webster, 1978; Planche *et al.* 1983).

The combination of these two models of experimental obesity: dietary and genetic, could give us some insight into the mechanisms governing the development of obesity, and of diet-induced thermogenesis. The purpose of this study is to determine whether there is an additive effect of cafeteria feeding upon genetic obesity in the deposition of fat reserves, by comparing the energy intake and energy deposition by young weaned Wistar, Zucker and obese Zucker rats fed control or cafeteria diets.

## MATERIALS AND METHODS

### *Animals*

Three groups of rats, all female and aged 30 days (weaned at 22), were used in this study: A) Wistar rats (bred at the University of Barcelona Animal Service from Charles River France stock), B) Lean Zucker (Fa/?) rats and C) Obese Zucker (fa/fa) rats; all Zucker rats were bred in the same Service, from heterozygous parents (Harlan-Ollac, UK). Their weight and growth curves can be seen in Figure 1. The fa/fa rats were identified on weaning by their aspect and a rapid fall in their rectal temperature during a short exposure to the cold.

The rats were housed individually, either in polypropylene-bottomed cages with

wood shavings as absorbent material, or in polycarbonate metabolic cages (Tecniplast Gazzada, Italy) which allowed the daily estimation of the consumption of individual food items. The cages were maintained in a light (on from 08.00 to 20.00), humidity (70-80 % relative humidity) and temperature (21-22 °C) controlled environment.

### *Dietary treatments*

Control rats were fed commercial pellets (type A03 from Panlab, Barcelona) and tap water *ad libitum*. All studies involving the measurement of food intake were carried out with the rats kept in metabolic cages. The rats given the cafeteria diet were presented daily with a fresh offering of biscuits spread with liver pâté, bacon, banana, chow pellets (as indicated above), tap water and whole milk complemented with 333 g/l sucrose plus 10 g/l of a mineral and vitamin supplement (Gevral, Cyanamid Ibérica) (Prats *et al.* 1989). All the materials were previously weighed and presented in excess (c. 20-30 % higher than the expected consumption). Twenty-four hours later, the remaining debris was isolated, identified and weighed. The drying of food leftovers was corrected by determining the amount of water lost in one day from known weight food samples left in a cage with no rats. This diet is a simplified version of an earlier cafeteria diet developed and studied by us (Salvadó *et al.* 1986; Prats *et al.* 1989), scaled down by selecting only the items actually consumed in significant portions. The animals were weighed every day at the same hour (11.00 to 12.00).

### *Experimental setup*

The three rat stocks defined: Wistar, lean Zucker and obese Zucker were studied under two dietary conditions: controls (fed rat chow pellets and water) and cafeteria (receiving the cafeteria diet). For each group three sets (5-7 rats each) of animals were studied, being killed at 30 (0 days of dietary

treatment), 45 (15 days of treatment) or 60 (30 days of treatment) of age. The rats belonging to the 60 day group were used for daily individual diet intake analysis (metabolic cages) during the whole 30 days of the study. The other rats (45 days, as well as weaned 30 day old rats) were kept individually in ordinary cages, where they were fed the same diets, but their intake was not measured.

On days 30, 45 or 60, the allotted groups of rats were weighed and immediately killed by decapitation. Their corpses were again weighed (the difference being the net loss of blood and fluids) and then dissected. The content of their intestine was carefully removed and weighed. The weights recorded and used for calculations were the empty body weights. The remaining carcass was then minced and ground with a blender, and stored frozen at  $-23^{\circ}\text{C}$  until processing.

#### *Analytical procedures*

The frozen ground carcasses were sampled (c. 2 g per sample in four bits taken from different parts of the ground rat following a previously tested sampling protocol). The samples were then homogenized with a Politron homogenizer; the resulting paste was then used for analysis. The constituents of the diets given to the animals were ground and homogenized, and then subjected to the same analyses as the samples of rat carcass.

The water content of the carcasses was estimated by differential weighing after drying the samples at  $110^{\circ}\text{C}$  for 24 hours. Digestible carbohydrate content in the samples was measured with an anthrone method (Fraga, 1956), after alkaline digestion (Good *et al.* 1933); this method did not include fibre. Protein was measured in the alkaline digests with a Folin phenol reagent method (Lowry *et al.* 1951); the samples heavily loaded with fat were cleaned with solid MgO. When performing food analyses, the protein fraction undigested by the alkaline treatment was not taken into account. In

carcass analyses, all protein was measured by further boiling in KOH until complete solubilization (Lin & Huang, 1982). Total lipids were estimated gravimetrically from the chloroform:methanol extracts (Folch *et al.* 1957).

The blood of a series of animals was collected in dry heparinized beakers and subjected to the analytical procedures outlined above to measure: water, carbohydrate, lipid, and protein content per g of blood. The empty body weight allowed for the calculation of the 'in vivo' content of water, protein, carbohydrate and lipid of the animals,

#### *Calculations and statistics*

The analyses of body composition of the series of rats killed on days 30 and 45 were used for the calculation of the composition of the rats kept in metabolic cages (killed at 60 days after one month of daily measurement of intake and body weight) on days 30 and 45. Since their weights were very close ( $P > 0.95$ , Student's *t* test) and the feeding scheme was the same, it was assumed that the percentage composition of the three series of rats was identical for matching age, strain and diet. This allowed the calculation of increases in body components and energy stores, always related to the actual empty body weight of the animal referred to the age of comparison.

Standard energy equivalences of non-fibre carbohydrate, [17.5 kJ/g], fat [38 kJ/g, assuming 95 % absorption] and protein [18.6 kJ/g] were used for the calculation of nominal food energy content (Passmore & Eastwood, 1986). Carcass energy was calculated from the determined weight of protein and fat using values of 23.7 and 39.6 kJ/g respectively for the energy contents.

The composition of the food items (Table 1) was used to establish the amount of digestible carbohydrate, lipid, protein (and computed overall energy) taken up and ingested by each rat for each day. The tabulated data for each diet component were combined in

order to determine the amount of each nutrient class ingested every day as well as its energy equivalence.

Statistical comparisons between the groups were made with standard three-way analysis of the variance (ANOVA) programmes.

## RESULTS

The mean composition of blood samples was 81.1 (SE 0.6) % water, 16.0 (SE 0.8) % protein, 0.48 (SE 0.03) % lipid and 0.14 (SE 0.03) % carbohydrate for all rats. The intake of the three groups of Wistar and Zucker rats during both periods studied (30–60 and 45–60 days) are presented in Table 2. The availability of a cafeteria diet resulted in increased energy intake for all rats. The ingestion of this energy-rich diet resulted in a consistent increase in lipid consumption, and decreased the carbohydrate intake of obese Zucker rats with age. Wistar rats did not show time-related changes in protein consumption, but lean and obese Zucker rats increased their mean daily intake of protein in the second period studied.

Figure 1 presents body weight increases with age. All cafeteria-fed groups showed higher values than their pellet-fed counterparts throughout. The highest weights were those of Zucker obese rats, followed by Wistar and finally by Zucker lean rats. The weights of the three groups of rats increased uniformly with age throughout the period studied. Body weight changes were significantly different for diet and strain.

Table 3 presents the weight and composition of 30, 45 and 60 day old rats fed pellet or cafeteria diets. The proportion of change in weight, water, carbohydrate, lipid, protein and energy content was very similar for both groups of lean rats, the Zucker obese animals showing much higher rates of change for all parameters in the 30 day period. Cafeteria-fed rats showed consistently higher rates of

deposition of nutrients and a much higher increase in energy content for the whole period. The rates of change were highest for lipid content, which increased 3.4 to 3.6-fold in one month in lean rats versus 5.6 in the fa/fa. The corresponding figures when rats were given a cafeteria diet were 8.2 to 7.3 to 7.7-fold for all three groups. The energy content increased by a factor of 3–3.2 in both lean rat groups and 5.0 in fatty rats (under the cafeteria diet the figures were 5.1–5.4 and 7.0-fold respectively). Mineral and other organic components were not measured and may account for the differences of body composition with respect to 100 %.

The net calculated energy and nutrient deposition (the differences in composition between the different age groups) for the various strain and diet groups are presented in Table 4. All groups showed net increases for all nutrients and energy in both periods studied. The rats that received the cafeteria diet consistently presented higher nutrient deposition figures than their control-fed counterparts. The rates of weight change were hardly altered for Zucker fa/fa rats, decreasing with age for both groups of lean rats. Despite this trend, there was a higher deposition of nutrients and energy in the 45-60 day group than in the 30-45 day group. The amount of water deposited in the second part of the study was smaller than in the first, except for fa/fa rats. The pattern of accretion of carbohydrate, lipid and protein was different in all three strains, and was affected by the type of diet. The buildup of lipid was considerable, especially for cafeteria rats. The rates of protein accretion changed very little with age. The stored lipid-to-stored protein ratio was strongly influenced over the whole period by cafeteria-feeding in lean animals (doubling the stored lipid/protein ratio in both groups); the effects upon obese rats were less marked (increase of only 19 %).

Comparisons between the combined values for energy ingested and energy stored are presented in Table 5. The data have



been derived from the figures in Tables 2 and 4. Zucker obese rats ate more than the Wistar controls in both periods. The energy ingested by all cafeteria-fed groups was higher than that of chow-fed controls. The Zucker fa/fa rats showed higher values than Wistar rats. The accumulation of energy was maximal for all cafeteria-fed groups, and highest for the obese Zucker rats, the values for the 45-60 day period being consistently higher than those of the first (30-45 day) period. The differences between energy ingested and energy stored or accrued were consistently higher for cafeteria-fed rats. Zucker fa/fa rats showed the highest values of energy ingested and accrued.

Cafeteria-fed rats incorporated a high proportion of the energy ingested. The highest values were found in Zucker obese rats. The fraction of the ingested energy stored in the body was higher for the 45-60 day rats than for the younger ones except for Zucker fa/fa rats, which showed very high deposition rates throughout.

## DISCUSSION

The changes in energy deposition in experimental animals can be studied either from their known or supposed composition (Rolls *et al.* 1980) or by measuring actual differences in energy content by means of a bomb calorimeter (Zucker, 1975; Rothwell & Stock, 1979). The results obtained as to the effect of cafeteria or high energy diets are not uniform (Barr & McCracken, 1984), probably due to different methodological approaches (Rothwell & Stock, 1988), different ages (Rothwell & Stock, 1982; Salvadó *et al.* 1986; Iglesias *et al.* 1986) and animal strains (Rothwell & Stock, 1980) as well as to the different composition and administration strategies of the cafeteria diets (Moore, 1987; Rothwell & Stock, 1988; Prats *et al.* 1989).

The rats fed a cafeteria diet in-

creased their fat (and to a lesser extent) their protein deposition, with an efficiency in the utilization of ingested energy for the buildup of their body masses that was higher than in chow-fed controls, in agreement with previous reports by other authors (Barr & McCracken, 1984). Obese Zucker rats showed a high gross efficiency of fat deposition, even when they were practically absent from the control diet, and showed the highest increases in body weight and storage of reserves (Zucker, 1975; Radcliffe *et al.* 1978; Planche *et al.* 1983). The effects of a cafeteria diet were —relatively— not so apparent upon the weight of Zucker fa/fa rats as in other groups, although after one month of dietary treatment, the fa/fa rats increased their weight almost by a factor of four. Obese rats showed higher stored lipid/protein ratios than their lean counterparts; the ingestion of a cafeteria diet had little effect on their high ratios, probably because they were already near the limit for new tissue fat accretion. This means that the storage of fat in obese rats actually follows a different pattern from that found in rats receiving the cafeteria diet; the latter incorporated relatively more protein than the fa/fa rats.

There was considerable uniformity in the efficiency of protein incorporation, which was higher, however, in the cafeteria-fed rats, especially in comparison with the wide variation in the deposition of fat. The differences observed between the amount of fat actually eaten by the rats subjected to the control (chow pellet) diet and that deposited implies considerable lipogenesis from protein or carbohydrate (Kannan *et al.* 1980). In humans (receiving much lower proportions of fat in the diet) the lipogenic pathway is already blocked by the dietary fatty acids (Weiss *et al.* 1986). This does not seem to be the case here, since the net lipogenic consequences of the control diet are clear, especially for the Zucker fa/fa rats (Bloxham *et al.* 1977). The extent of this metabolic ability is unclear in the case of rats fed a cafeteria diet, since their dietary availability of

fats is much higher, in agreement with previous results (Prats *et al.* 1989). However, since their stored lipid/protein ratio indicates the lower fat-accruing ability of cafeteria-fed lean rats versus obese rats, it could be supposed that they actively oxidize dietary fats at a high rate, as observed in mice (Cartañà *et al.* 1989).

It was assumed that the differences between energy intake and energy available for metabolic activities were essentially small and uniform, thus it was presumed that a significant portion of the energy available for all animals studied—especially cafeteria-fed and Zucker obese rats—must be eliminated as heat, since it was ingested and was not deposited as body mass.

Since the Zucker obese rats maintain their body temperature with residual metabolic heat (Himms-Hagen, 1989), their ability to control body temperature is restricted to the control of energy losses. However, to a certain extent they can influence their real heat production by increasing metabolic activity. Since the energetics of ATP formation from oxidizable substrates represents a loss of about 1/3rd of the energy (Flatt *et al.* 1984) and the additional use of ATP in exergonic synthesis reactions represents the loss of about one half of the ATP energy, we can assume that the overall energy efficiency of the complete oxidation of substrates is about a third of the initial energy, which means that about two thirds of this energy would finally be lost as heat (Ferrannini, 1988). Since Zucker rats need this heat, they can activate the utilization of substrates as a way of obtaining more residual energy. However, since they cannot use substrates inefficiently because of a failure in their thermogenesis system (Triandafillou & Himms-Hagen, 1983; Planche *et al.* 1983; Bazin *et al.* 1984), they are not able to eliminate their excess energy and must store it. It is a contradiction that these animals should eat more (Radcliffe & Webster, 1978; Harris *et al.* 1988) to maintain a high residual metabolic energy and gain some headway in their control

of body temperature, but they have to pay dearly for it by enormously increasing their reserves, since they have no other place to dump the excess energy ingested.

Protein turnover is considered to be one of the most energy demanding components of basal metabolic activity in the mammal (Milligan, 1971; Reeds *et al.* 1982; Waterlow, 1984). The increase in protein deposition, and thence in protein mass subjected to this turnover would considerably increase the amount of energy needed to maintain it, and thence the amount of residual energy liberated in the process. Thus, the high net protein deposition observed in all cafeteria-fed groups and the high amounts of protein accrued by obese Zucker rats suggest that this may contribute to the overall process of converting nutrient energy into heat (cafeteria feeding) and using it to maintain body temperature (Zucker fa/fa rats).

The body weight control system is an integrated entity that controls the size of body reserves in a direct mutual relationship of control with the center governing body temperature (Jansky, 1973). Both processes are vital for the homeostatic function of the homeotherm, and share some effectors in their actuation, like brown adipose tissue, a site of the diet and cold-induced thermogenesis (Rothwell & Stock, 1979; Ma & Foster, 1989), so it is reasonable to assume that a failure in this system would eventually affect the entire thermostatic system, despite this important drawback. The fact that in obese Zucker rats the thermic homeostasis has taken preeminence over energy homeostasis, as our data seem to point out, clearly indicates the degree of immediate importance of these systems for survival.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by grants from the 'Dirección General de Investigación Científica y Técnica' from the Government of

Spain (PB86-0512), and from the 'Instituto de Estudios Documentales del Azúcar', as well as by a personal grant (I. Rafecas) from the CIRIT of the Government of Catalonia. Thanks are given to Robin Rycroft for his revision of the text and editorial advice.

## REFERENCES

- Alemany, M. (1989) The etiologic basis for the classification of obesity. *Progress in Food and Nutrition Science* **13**, 45-66.
- Barr, H.G., McCracken, K.J. (1984) High efficiency of energy utilization in 'cafeteria' and force-fed rats kept at 29 °. *British Journal of Nutrition* **51**, 379-387.
- Bazin, R., Eteve, D., Lavau, M. (1984) Evidence for decreased GDP binding to brown adipose tissue mitochondria of obese Zucker (fa/fa) rats in the very first days of life. *Biochemical Journal* **221**, 241-245.
- Bloxham, D.P., Fitzsimons, J.T.R., York, D.A. (1977) Lipogenesis in hepatocytes of genetically obese rats. *Hormone and Metabolic Research* **9**, 304-309.
- Bray, G.A. (1977) The Zucker-fatty rat: a review. *Federation Proceedings* **36**, 148-153.
- Cartañà, J., Huguet, J., Arola, L.I., Alemany, M. (1989) Effects of a high lipidic diet on murine energetic reserves in food deprivation. *Hormone and Metabolic Research* **21**, 606-611.
- Ferrannini, E. (1988) The theoretical bases of indirect calorimetry: A review. *Metabolism* **37**, 287-301.
- Flatt, J.P., Pahud, P., Ravussin, E., Jéquier, E. (1984) An estimate of the P:O ratio in man. *Trends in Biochemical Sciences* **9**, 466-468.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* **266**, 497-509.
- Fraga, F. (1956) Determinación de glucógeno en moluscos con el reactivo de la antrona. *Investigación Pesquera* **3**, 69-74.
- Friedman, M.I. (1984) Psychologic determinants of food intake. In: *Malnutrition: determinants and consequences*, pp. 295-303. New York: Alan R. Liss.
- Godbole, V., York, D.A., Bloxham, D.P. (1978) Developmental changes in the fatty (fa/fa) rat: evidence for defective thermogenesis preceding the hyperlipogenesis and hyperinsulinemia. *Diabetologia* **15**, 41-44.
- Good, C.A., Kramer, H., Somogyi, M. (1933) The determination of glycogen. *Journal of Biological Chemistry* **100**, 485-494.
- Harris, R.B.S., Tobin, G., Hervey, G.R. (1988) Voluntary food intake of lean and obese Zucker rats in relation to dietary energy and nitrogen content. *Journal of Nutrition* **118**, 503-514.
- Himms-Hagen, J. (1989) Role of thermogenesis in the regulation of energy balance in relation to obesity. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* **67**, 394-401.
- Iglesias, R., Andrés, V., Castellà, J., Alemany, M. (1986) Lack of effect of the onset of cafeteria feeding on growth and thermogenesis in young rats. *Nutrition Reports International* **34**, 229-239.
- Jansky, L. (1973) Non-shivering thermogenesis and its thermoregulatory significance. *Biological Reviews* **48**, 85-132.
- Kannan, R., Learn, D.B., Baker, N., Elovson, J. (1980) Fatty acid synthesis in vivo and hepatic contribution to whole body lipogenic rates in obese Zucker rats. *Lipids* **15**, 993-998.
- Kaul, R., Schmidt, I., Carlisle, H. (1985) Maturation of thermoregulation in Zucker rats. *International Journal of Obesity* **9**, 401-409.
- Lin, C.P., Huang, P.C. (1982) Actual nitrogen deposition in mature adult rats fed moderate to high protein diets. *Journal of Nutrition* **112**, 1067-1074.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* **193**, 265-275.
- Ma, S.W.Y., Foster, D.O. (1989) Brown adipose tissue, liver and diet induced thermogenesis in cafeteria diet-fed rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* **67**, 376-381.
- Milligan, L.P. (1971) Energetic efficiency and metabolic transformations. *Federation Proceedings of the* **30**, 1454-1458.
- Moore, B.J. (1987) The cafeteria diet—an inappropriate tool for studies of thermogenesis. *Journal of Nutrition* **117**, 227-231.
- Naim, M., Brand, J.G., Kare, M.R., Carpenter, R.G. (1985) Energy intake, weight gain and fat deposition in rats fed flavored, nutritionally controlled diets in a multi-choice ('cafeteria') design. *Journal of Nutrition* **115**, 1447-1458.
- Passmore, R., Eastwood, M.A. (1986) *Davidson and Passmore Human Nutrition and Dietetics*. Ch.3. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Planche, E., Joliff, M., de Gasquet, P., Le Liepvre, X. (1983) Evidence of a defect in energy expenditure in 7-day-old Zucker rat (fa/fa). *American Journal of Physiology* **245**, E107-E113.
- Prats, E., Monfar, M., Castellà, J., Iglesias, R., Alemany, M. (1989) Energy intake of rats fed a cafeteria diet. *Physiology and Behavior* **45**, 263-272.
- Radcliffe, J.D., Webster, A.J.F. (1978) Sex, body composition and regulation of food intake during growth in the Zucker rat. *British Journal of Nutrition* **309**, 483-492.
- Reeds, P.J., Wahle, K.W.J., Haggarty, P. (1982) Energy costs of protein and fatty acid synthesis. *Proceedings of the Nutrition Society* **41**, 15-161.
- Rolls, B.J., Rowe, E.A., Turner, R.C. (1980) Persistent obesity in rats following a period of consumption of a mixed, high energy diet. *Journal of Physiology* **298**, 415-427.
- Rothwell, N.J., Stock, M.J. (1979) A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. *Nature* **281**, 31-35.
- Rothwell, N.J., Stock, M.J. (1980) Intra-strain differences in the response to overfeeding in the rat. *Proceedings of the Nutrition Society* **39**, 20A.
- Rothwell, N.J., Stock, M.J. (1982) Effects of feeding a palatable 'cafeteria' diet on energy balance in young and adult lean (+/?) Zucker rats. *British Journal of Nutrition* **47**, 461-471.
- Rothwell, N.J., Stock, M.J. (1986) Diet-induced thermogenesis. In: *Brown adipose tissue*, pp.269-298 [P. Trayhurn & D.G. Nicholls, editors]. London: Edward Arnold.
- Rothwell, N.J., Stock, M.J. (1988) The cafeteria diet as a tool for studies of thermogenesis. *Journal of Nutrition* **118**,



925-928.

- Salvadó, J., Segué, T., Alemany, M., Arola, L.I. (1986) Effects of lactation on circulating plasma metabolites in 'cafeteria-fed' rats. *British Journal of Nutrition* **55**, 139-147.
- Sclafani, A., Springer, D. (1976) Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. *Physiology and Behavior* **17**, 461-471.
- Triandafillou, J., Himms-Hagen, J. (1983) Brown adipose tissue in genetically obese (fa/fa) rats. Response to cold and diet. *American Journal of Physiology* **244**, E145-E150.
- Waterlow, J.C. (1984) Protein turnover, with special reference to man. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* **69**, 409-438.
- Weiss, L., Hoffmann, G.E., Schreiber, R., Andres, H., Fuchs, E., Körber, E., Kolb, H.J. (1986) Fatty acid biosynthesis in man, a pathway of minor importance. *Biological Chemistry Hoppe-Seyler* **367**, 905-912.
- Zucker, L.M. (1975) Efficiency of energy utilization by the Zucker hereditarily obese rat 'fatty'. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **148**, 498-500.
- Zucker L.M., Zucker, T.F. (1961) Fatty, a new mutation in the rat. *Journal of Heredity* **52**, 275-278.