

SEÑALIZACIÓN INTRACELULAR ACTIVADA POR LEPTINA Y SU MODULACIÓN POR EL EJERCICIO FÍSICO (II)

INTRACELLULAR SIGNALING PATHWAYS ACTIVATED BY LEPTIN AND ITS MODULATION BY EXERCISE (II)

AMPK (5'-AMP-Activated Protein Kinase)

El nombre de AMPK fue adoptado en 1987⁸⁰, no obstante la enzima fue descubierta en 1973⁸¹. La AMPK es una enzima heterotrimérica compuesta por una subunidad catalítica (α) y dos subunidades reguladoras (β y γ)^{61,82} (Figura 4), cuya expresión está regulada por múltiples genes que codifican cada una de las subunidades ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$)⁸³. En total se pueden formar 12 heterotrímeros diferentes de AMPK, cuyo patrón de expresión muestra gran pleiotropismo^{84,85}. La función específica de cada uno de los heterotrímeros aún no ha sido aclarada, pero se ha demostrado que los ratones knockout para AMPK $\alpha 2$ desarrollan obesidad y diabetes tipo 2⁸⁶.

En el músculo esquelético la mayoría de los complejos contienen $\alpha 2$ y $\beta 2$ ⁸⁵. Un 20% de estos complejos $\alpha 2/\beta 2$ están asociados a $\gamma 3$, mientras que el resto se encuentran mayoritariamente asociados a $\gamma 1$ ⁸⁷. Aunque la isoforma $\alpha 1$ se ha encontrado en extractos musculares, existe evidencia experimental para sugerir que procede de otras células diferentes a las fibras musculares⁸⁸. En este tejido, la actividad de la AMPK depende principalmente de la fosforilación de la treonina 172 en el asa de activación de la subunidad α por la quinasa LKB1^{89,90},

antes llamada quinasa de AMPK (AMPKK). La LKB1 también se activa por AMP⁹¹. Los ratones transgénicos que carecen de LKB1 tienen muy escasa actividad AMPK $\alpha 2$ ⁹², lo que confirma la importancia de esta quinasa para la activación de AMPK. Además, la AMPK puede ser activada alostéricamente, a través de

Teresa Fuentes¹

Alfredo Santana^{1,2,3}

Hugo Olmedillas¹

Amelia Guadalupe¹

José AL. Calbet¹

Borja Guerra¹

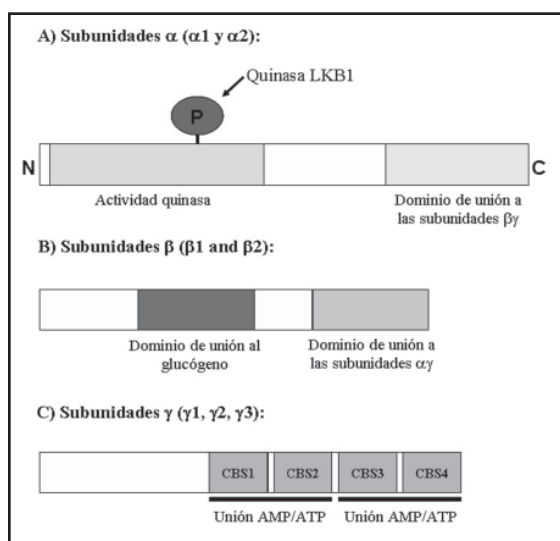


FIGURA 4. Estructura típica representada en dominios de las subunidades α , β y γ de AMPK. Los heterotrímeros de AMPK presentes en músculo esquelético humano parecen ser $\alpha 2$ - $\beta 2$ - $\gamma 3$, $\alpha 2$ - $\beta 2$ - $\gamma 1$, y $\alpha 1$ - $\beta 2$ - $\gamma 1$. Las subunidades $\beta 1$ y $\gamma 2$ no parecen formar parte de los heterotrímeros de AMPK existentes en músculo esquelético humano

¹Laboratorio de Rendimiento Humano Dpto. de Educación Física, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria Las Palmas de Gran Canaria
²Unidad de Genética Hospital Materno Infantil de Las Palmas de Gran Canaria
³Unidad de Investigación, Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín, Bco Ballena s/n, Las Palmas de Gran Canaria

CORRESPONDENCIA:

Borja Guerra Hernández
Laboratorio de Rendimiento Humano. Departamento de Educación Física. Campus Universitario de Tafira S/N.
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 35017 Las Palmas de Gran Canaria. Gran Canaria. Canary Islands. Spain.
E-mail: Borja.Guerra@gmail.com

Aceptado: 13.11.2007 / Revisión nº 219

la subunidad γ , que contiene dos módulos de *Bateman* que pueden unirse con gran afinidad a AMP y con mucha menos afinidad a ATP (Figura 4)^{93,94}. La unión de AMP a la subunidad γ facilita la fosforilación de la treonina 172 por la LKB1^{89,90,92}. Además, también se ha demostrado que el AMP es incapaz de activar a la AMPK en ausencia de LKB1⁹². Al mismo tiempo, la unión de AMP inhibe la de-fosforilación de AMPK por las proteínas fosfatasa PP2A y PP2C⁹⁵. La sensibilidad a la activación por AMP de la AMPK varía en función del tipo de isoforma γ presente. De esta forma, la isoforma más sensible a la activación por AMP es la $\gamma 2$, la menos sensible la $\gamma 3$, mientras que la $\gamma 1$ presenta una sensibilidad intermedia⁹⁶. No obstante, la isoforma predominante en las fibras musculares glucolíticas (FT o tipo II) es la $\gamma 3$, mientras que esta isoforma se expresa escasamente en las fibras musculares lentas u oxidativas (ST o tipo I)⁸³.

La principal función de la AMPK en el músculo esquelético es la de estimular la oxidación de ácidos grasos al fosforilar a la ACC (*Acetil Coenzima-A Carboxilasa*), actuando como un “sensor de combustible” que controla el estatus energético de las células^{97,98}. La ACC fosforilada queda inactivada y deja de producir malonil-CoA. El malonil-CoA es un inhibidor alostérico de la actividad CPTI (*Carnitina Palmitoiltransferasa I*), responsable del transporte de ácidos grasos de cadena larga al interior de las mitocondrias⁹⁹. En el músculo esquelético predomina la isoforma β (ACC- β)⁹⁷. Se ha demostrado que ratones *Knockout* para ACC- β muestran un incremento en la oxidación de ácidos grasos en el músculo y un nivel de adiposidad reducido⁹⁷. Además, también se ha demostrado que un incremento de la actividad de la AMPK muscular produce un aumento del transporte de glucosa al interior de la fibra⁸⁵. Este aumento del consumo de glucosa se asocia a la fosforilación de la proteína AS160 (substrato de AKT de 160 kDa, también conocida como RabGAP (*Rab GTPase-activating protein*))¹⁰⁰. La AS160 también se fosforila en respuesta a la estimulación por insulina¹⁰¹. Esta última evidencia experimental vuelve a poner de manifiesto la interacción en la señalización activada por insulina y leptina.

En los últimos años se han aportado numerosas evidencias experimentales que documentan ampliamente los efectos de la leptina sobre esta importante vía de señalización. Un estudio particularmente interesante ha demostrado que la inyección intravenosa de leptina incrementa la fosforilación de la AMPK $\alpha 2$ en músculo esquelético, efecto que es más acusado en las fibras de contracción lenta⁹⁷ y que depende de la unión de la leptina al receptor OB-Rb⁹⁷. No obstante la activación de AMPK por leptina también podría depender de la isoforma corta del receptor OB-Ra⁶¹. Además, la leptina induce un aumento del tono simpático de tal manera que la liberación de noradrenalina por las terminaciones nerviosas de la pared vascular de las arteriolas musculares determina a través de receptores alfa-adrenérgicos de las fibras musculares un aumento tardío de la actividad AMPK en ratas⁹⁷. La activación alfa-adrenérgica de la AMPK está mediada por receptores acoplados a proteínas G (Gq)¹⁰². Además, existen estudios realizados en ratones transgénicos que sobre-expresan leptina que han demostrado que los niveles permanentemente elevados de la hormona producen activación crónica de la AMPK en las fibras musculares lentas⁹⁸. Estos ratones son delgados y adelgazan más rápidamente que los ratones normales cuando son sometidos a una dieta hipercalórica. Pero es especialmente importante destacar que a pesar de presentar unos niveles crónicamente elevados de leptina, no muestran signos de resistencia a la acción de la hormona, contrariamente a lo observado en seres humanos obesos que presentan hiperleptinemia y resistencia a la acción de la leptina. En contraste con lo observado en los ratones transgénicos, la actividad basal de la AMPK parece no estar modificada en obesos¹⁰³ o ligeramente disminuida¹⁰⁴, tal vez debido a la resistencia a la acción de la leptina. En cualquier caso es necesario realizar estudios con una muestra amplia de sujetos con diversos niveles de obesidad para poder establecer si existe alguna relación entre composición corporal, leptina y actividad AMPK en músculo esquelético en seres humanos. Los mecanismos por medio de los cuales se produce la resistencia a la leptina observada en obesidad serán abordados extensamente en un capítulo posterior.

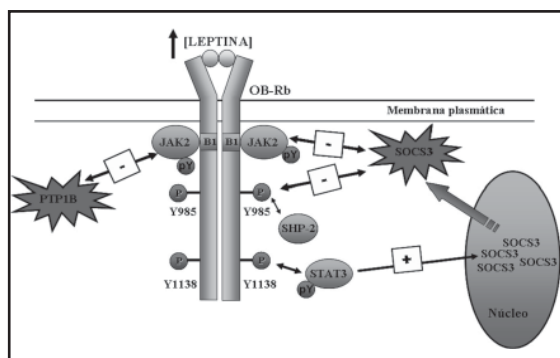
En lo que se refiere a los efectos del ejercicio físico sobre esta vía de señalización, hasta el momento se sabe que la actividad AMPK aumenta en respuesta al ejercicio pero sólo cuando la intensidad es superior al 50% del VO_{2max} ^{88, 105}. Si la intensidad del ejercicio es inferior, la actividad AMPK sólo aumenta si el esfuerzo se desarrolla hasta la extenuación¹⁰⁶. La estimulación de AMPK por el ejercicio es rápida puesto que este incremento se comienza a detectar ya a los cinco minutos después del inicio del mismo, manteniéndose elevada durante el resto del ejercicio¹⁰⁷. Estudios más recientes han demostrado que ejercicios de alta intensidad, que producen el agotamiento en dos minutos y en treinta segundos respectivamente, también inducen un incremento de la activación de AMPK¹⁰⁸. Ejercicios realizados al 70% del VO_{2max} también se han asociado, en seres humanos, a un aumento de la fracción fosforilada de AS160 en ciclistas, tras una hora de esfuerzo^{100,107}. En cambio, inmediatamente después de sprints de dos minutos y sesenta segundos de duración no se han observado cambios en el grado de fosforilación de la AS160¹⁰⁰. Recientemente se ha comunicado que la fosforilación de AS160 durante el ejercicio está, al menos en parte, mediada por la activación del heterotrímero de AMPK $\alpha2/\beta2/\gamma1$ ¹⁰⁰. Otro estudio particularmente interesante ha demostrado que en las mujeres el grado de activación AMPK es superior que en los hombres cuando realizan ejercicio durante noventa minutos al 60% del VO_{2max} ¹⁰⁹. Los efectos de la práctica regular de actividad física (entrenamiento deportivo) sobre la actividad de AMPK y su cascada de señalización intracelular han sido mucho menos estudiados. Al respecto, recientemente se ha comunicado que al menos el entrenamiento de resistencia de tres semanas de duración induce un incremento de la cantidad de proteína AKT y GLUT4 aunque el aumento de AS160 no alcanzó significación estadística⁷⁷.

RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A LA LEPTINA

Existen numerosos estudios que demuestran que la señalización mediada por OB-Rb y activada por leptina está sometida a un sistema de

control de retroalimentación negativa regulado por las proteínas SOCS (*Suppressor of Cytokine Signalling*)⁵². En concreto, actualmente se sabe que cuando los niveles de leptina están permanentemente elevados en sangre, la hormona induce la expresión génica de SOCS3 a través de STAT3. El producto proteico de SOCS3 es capaz de interactuar entonces con el residuo fosforilado Y985 de OB-Rb y con JAK2 bloqueando la señalización activada por leptina^{26,52,110,111} (Figura 5). Puesto que el incremento de la expresión de SOCS3 inducido por niveles permanentemente elevados de leptina es capaz de inhibir la fosforilación en residuos de tirosina de OB-R, uno de los mecanismos propuestos para explicar el fenómeno de la resistencia a la leptina es precisamente un cambio en la expresión endógena de SOCS3^{112,113}. Así, se ha observado que ratones *knockout* para SOCS3 (SOCS3 -/+) tienen incrementada la sensibilidad a la leptina con respecto a los ratones salvajes, puesto que la inyección de esta hormona en los primeros es mucho más efectiva reduciendo el peso corporal y activando la señalización a partir del OB-Rb^{113, 114}. Otra evidencia en este sentido ha sido aportada por un estudio en el que se demuestra que la inhibición de la expresión de SOCS3 por medio de técnicas de ARN de interferencia, incrementa la fosforilación de JAK2 y de STAT3¹¹⁵. Además, los autores de este estudio demostraron que el bloqueo de la expresión de SOCS3 no sólo incrementaba en gran medida la fosforilación de ERK, sino que además bloqueaba el descenso de esta señal tras una estimulación prolongada del receptor. De esta forma parece plausible un potencial mecanismo de inhibición de la seña-

FIGURA 5. Mecanismos de regulación negativa de la señalización activada por leptina a través de la isoforma larga de su receptor (OB-Rb). Cuando los niveles de leptina están permanentemente elevados se produce una sobre-activación de STAT3, lo que a su vez induce la expresión del gen SOCS3 (*Suppressor of Cytokine Signalling 3*). El producto proteico de SOCS3 interactúa con Y985 de OB-Rb y con JAK2, bloqueando la señalización activada por la hormona. Otro regulador negativo de la señalización activada por leptina es la proteína PTP1B (*Protein Tyrosine Phosphatase 1B*), la cual es capaz de interactuar con JAK2 bloqueando su señalización



lización mediada por ERK, y probablemente por JAK2, independiente de Y985 y dependiente de Y1138, y producido por un incremento de la expresión de SOCS3 debida a una estimulación prolongada de la cola intracelular de OB-Rb^{113,115}.

El sistema de retroalimentación negativa mediado por SOCS3 explica porque en una condición patológica como es la obesidad donde los niveles circulantes de leptina están permanentemente elevados, la hormona es incapaz de inducir un descenso del peso corporal, lo cual a su vez indica que en la mayoría de los casos la obesidad en humanos representa una forma de resistencia a la leptina⁶². De hecho, aunque se ha observado que la administración exógena de leptina es capaz de producir un descenso del peso corporal en obesos, esta reducción ha sido cuando menos modesta a las dosis de hormona testadas^{114,116}.

Otro regulador negativo de la señalización por leptina es la proteína PTP1B (*Protein Tyrosine Phosphatase 1B*), la cual es capaz de regularla a través de la de-fosforilación de JAK2¹¹⁷⁻¹¹⁹ (Figura 5). La implicación de PTP1B en la regulación de las vías de señalización dependientes de leptina ha sido demostrada en estudios en los que se administró leptina a ratones *knockout* para PTP1B, observándose una hipersensibilidad a los efectos fisiológicos de la hormona en lo que se refiere al control del peso corporal^{26,119}. Además, diversos estudios han demostrado que PTP1B es un importante regulador fisiológico negativo de la señalización mediada por insulina^{26,120,121}. Más recientemente se ha demostrado la implicación de la proteína C reactiva en la modulación de la sensibilidad a la leptina, observándose la interacción de esta proteína con la leptina en sangre lo que impediría la unión a su receptor, bloqueando por tanto las acciones fisiológicas de la hormona¹²².

En los últimos años se ha demostrado la existencia, al menos a nivel hipotalámico, de una proteína denominada SH2-B que actúa como un modulador positivo de la señalización activada por leptina ya que amplifica la activación de JAK2, incrementando la sensibilidad a la hormona¹²³.

El fenómeno de la resistencia a la leptina ha sido observado también en tejidos periféricos, como por ejemplo el músculo esquelético. En este sentido, se ha demostrado que dietas ricas en grasas producen resistencia a la leptina en el músculo esquelético de la rata, lo que incrementa la acumulación intramuscular de triacilglicerol (TG) y conduce en última instancia al desarrollo de la resistencia a la insulina típicamente observada en obesidad³⁰. Más recientemente, se ha publicado la primera evidencia experimental de la existencia de resistencia a la leptina en músculo esquelético humano³⁴. En este estudio se demuestra que la leptina es incapaz de reducir la acumulación de TG en músculo esquelético de individuos obesos pero si lo hace en tejido muscular de sujetos delgados³⁴.

IMPORTANCIA DEL EJERCICIO FÍSICO PARA COMBATIR LA OBESIDAD. SENSIBILIDAD A LA LEPTINA Y EJERCICIO FÍSICO

La *obesidad* constituye el principal problema de salud comunitaria al que deberá enfrentarse la sociedad occidental y especialmente la sociedad española en los próximos años¹²⁴⁻¹²⁶. De hecho, nuestro país presenta índices de los más elevados de Europa. Este problema afecta a todos los segmentos de la población, desde niños a adultos y ancianos. En la mayoría de los casos la obesidad se asocia a una falta de actividad física y a un desequilibrio entre la energía consumida y energía gastada. Para lograr una disminución de la masa grasa corporal es necesario instaurar un balance energético negativo, es decir que el gasto energético diario sea superior a la ingestión diaria de calorías. Para ello es importante aumentar la actividad física diaria¹²⁷⁻¹³³. La práctica habitual de actividad física se asocia, independientemente del grado de adiposidad, a una menor mortalidad en la población general¹³⁴⁻¹³⁶ y a un menor riesgo cardiovascular^{113,130,131}.

La práctica regular de ejercicio físico se asocia a un descenso de la masa grasa corporal, especialmente de la masa grasa visceral, aumenta la sensibilidad a la insulina, disminuye los niveles

basales de glucosa e insulina y aumenta la expresión de proteínas transportadoras de glucosa y ácidos grasos en las fibras musculares¹³⁷⁻¹³⁹. En los últimos años se han aportado evidencias experimentales que demuestran que el ejercicio físico es capaz de incrementar la sensibilidad muscular a la leptina. Así, se ha observado que el entrenamiento físico regular es capaz de prevenir, al menos parcialmente, la resistencia muscular a la leptina observada en roedores alimentados con dietas ricas en grasa¹⁰³. Los datos en humanos son mucho menos abundantes puesto que sólo existen algunos estudios que demuestran que el ejercicio físico reduce los niveles circulantes de leptina sin producir alteraciones de la masa grasa corporal, lo que sugiere, indirectamente, un incremento de la sensibilidad a la hormona^{18,140}.

Estas evidencias experimentales ponen de manifiesto la necesidad de profundizar en el conocimiento de los diferentes mecanismos bioquímicos y moleculares que gobiernan la sensibilidad muscular a la leptina y de cómo la práctica regular de actividad física podría modular este fenómeno. Esto podría permitir la implementación de aproximaciones terapéuticas novedosas y efectivas para el tratamiento de la obesidad.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

La leptina ha contribuido enormemente a incrementar en los últimos años nuestro conocimiento actual sobre la compleja red de vías de señalización que se activan como consecuencia de las diferentes funciones del sistema neuroendocrino. Además, la amplia distribución de los receptores de leptina en diferentes tejidos periféricos ha proporcionado un área de investigación muy fértil en la que muchos investigadores han tratado de desentrañar los mecanismos moleculares por medio de los cuales la hormona ejerce sus efectos en estos tejidos. A pesar de esto, todavía no conocemos la importancia real de las diferentes cascadas de señalización en los efectos mediados por la leptina en tejidos periféricos, como por ejemplo el músculo esquelético. Además, tampoco conocemos cómo interaccionan las diferentes

vías activadas por la leptina con otras cascadas disparadas en la periferia por otras hormonas, como por ejemplo la insulina. Otro aspecto muy importante en el que se precisa profundizar en los próximos años es en los mecanismos responsables del fenómeno de la resistencia central y periférica a la leptina. En este sentido, es esperable que el avance del conocimiento del complejo mapa de las vías de señalización activadas por la hormona que se está produciendo actualmente pueda permitir, en un periodo relativamente corto de tiempo, una mayor comprensión del fenómeno de la resistencia a la leptina, lo que a su vez podría traducirse en mejoras reales en el tratamiento de la obesidad y de sus patologías asociadas. Al respecto, en este trabajo de revisión se muestran evidencias experimentales que sugieren que el ejercicio es capaz de revertir, al menos parcialmente, la resistencia a la leptina inducida por dietas ricas en grasa. Sin embargo, este tipo de estudios no ha sido realizado en músculo esquelético de humanos sanos y/u obesos. Tampoco se ha investigado que tipo de ejercicio (entrenamiento de larga duración de resistencia y/o de fuerza o agudo) podría ser más eficaz a la hora de aumentar la sensibilidad muscular a la leptina. Por tanto, permanece aún sin establecer en humanos si el ejercicio físico es capaz de modular la sensibilidad muscular a la leptina regulando la actividad de las cascadas de señalización que son activadas por la hormona en este importante tejido diana.

RESUMEN

La leptina es una adipocitoquina que interviene en la regulación del apetito, del metabolismo basal y de las reservas de grasa del organismo. Es secretada principalmente por los adipocitos en proporción directa a la masa grasa y actúa sobre receptores presentes en el hipotálamo y en tejidos periféricos. Se desconoce con detalle el proceso de señalización intracelular activado por leptina, no obstante esta hormona es capaz de usar las cascadas de señalización JAK/STAT, MAPK, AMPK y algunos componentes de la vía de señalización de IRS/PI3K, siendo ésta última la principal vía por la que la insulina actúa en las

células. Por ello algunos de los efectos de la leptina, como por ejemplo la activación del transportador celular de glucosa y la síntesis de glucógeno en músculo esquelético, son similares a los producidos por insulina. En cambio, insulina y leptina tienen efectos opuestos sobre la oxidación de ácidos grasos. Los pacientes con obesidad presentan hiperinsulinemia e hiperleptinemia, con resistencia a la acción de ambas hormonas, en parte o totalmente reversible mediante la práctica de ejercicio físico regular. El tratamiento con leptina es muy poco eficaz en enfermos obesos, por lo que antes de administrar leptina sería necesario eliminar o reducir la resistencia periférica a la leptina, esto último se puede conseguir con la realización de ejercicio físico regular.

Palabras clave: Receptor de leptina. Vías de señalización. Resistencia. Sensibilidad. Obesidad.

SUMMARY

Leptin is an adipocytokine which plays a role in the regulation of appetite, metabolic rate

and fat deposition. This hormone is primarily secreted by white adipose in proportion to the size of the fat stores and acts on brain and peripheral receptors. Intracellular signalling by leptin may be produced via activation of the JAK/STAT, MAPK, AMPK and some components of the IRS/PI3K, the latter being the main signalling pathway used by insulin. Thus, insulin and leptin share some effects like for example stimulation of glucose transport and glycogen synthesis in skeletal muscles. However, insulin and leptin have antagonistic effects on fat oxidation. Obese patients have hyperinsulinaemia and hiperleptinemia, due to resistance to the action of both hormones, which can be counteracted by exercise. Although the ultimate mechanism responsible for leptin resistance in obesity remains to be elucidated it is clear that regular exercise may reduce leptin resistance in this population and, could be used to improve the response to leptin treatment.

Key words: Leptin receptor. Signaling pathways. Resistance. Sensitivity. Obesity.

B I B L I O G R A F Í A

1. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
2. Dulloo AG, Stock MJ, Solinas G, Boss O, Montani JP, Seydoux J. Leptin directly stimulates thermogenesis in skeletal muscle. *FEBS Lett*. 2002;515(1-3):109-13.
3. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998;395(6704):763-70.
4. Muoio DM, Dohm GL, Tapscott EB, Coleman RA. Leptin opposes insulin's effects on fatty acid partitioning in muscles isolated from obese ob/ob mice. *Am J Physiol*. 1999b;276(5 Pt 1):E913-21.
5. Muoio DM, Seefeld K, Witters LA, Coleman RA. AMP-activated kinase reciprocally regulates triacylglycerol synthesis and fatty acid oxidation in liver and muscle: evidence that sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase is a novel target. *Biochem J* 1999a;338(Pt 3):783-91.
6. Wauters M, Considine RV, Chagnon M, Mertens I, Rankinen T, Bouchard C, et al. Leptin levels, leptin receptor gene polymorphisms, and energy metabolism in women. *Obes Res* 2002;10(5):394-400.
7. Fruhbeck G, Jebb SA, Prentice AM. Leptin: physiology and pathophysiology. *Clinical physiology (Oxford, England)*. 1998;18(5):399-419.
8. Kline AD, Becker GW, Churgay LM, Landen BE, Martin DK, Muth WL, et al. Leptin is a four-helix

- bundle: secondary structure by NMR. *FEBS Lett* 1997;407(2):239-42.
9. **Madej T, Boguski MS, Bryant SH.** Threading analysis suggests that the obese gene product may be a helical cytokine. *FEBS Lett.* 1995;373(1):13-8.
 10. **Prolo P, Wong ML, Licinio J.** Leptin. *Int J Biochem Cell Biol.* 1998;30(12):1285-90.
 11. **Zhang F, Basinski MB, Beals JM, Briggs SL, Churgay LM, Clawson DK, et al.** Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature.* 1997;387(6629):206-9.
 12. **Ara Royo IV-R, G. Pérez Gómez, J. Dorado García, C. Calbet J.A.L.** Leptina y Composición Corporal. *Archivos de Medicina del Deporte* 2003;XX(93):42-51.
 13. **Banks WA.** The many lives of leptin. *Peptides.* 2004;25(3):331-8.
 14. **Fruhbeck G.** A heliocentric view of leptin. *Proc Nutr Soc.* 2001;60(3):301-18.
 15. **Considine RV, Caro JF.** Leptin and the regulation of body weight. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29(11):1255-72.
 16. **Ara Royo IV-R, Pérez Gómez G, Dorado García J, C. Calbet JAL.** Leptina y Ejercicio Físico. *Archivos de Medicina del Deporte* 2003;XX(94):135-42.
 17. **Houmard JA, Cox JH, MacLean PS, Barakat HA.** Effect of short-term exercise training on leptin and insulin action. *Metabolism.* 2000;49(7):858-61.
 18. **Perusse L, Collier G, Gagnon J, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, et al.** Acute and chronic effects of exercise on leptin levels in humans. *J Appl Physiol* 1997;83(1):5-10.
 19. **Thong FS, Hudson R, Ross R, Janssen I, Graham TE.** Plasma leptin in moderately obese men: independent effects of weight loss and aerobic exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279(2):E307-13.
 20. **Ahima RS, Flier JS.** Leptin. *Annu Rev Physiol.* 2000;62:413-37.
 21. **Bado A, Lévassieur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, et al.** The stomach is a source of leptin. *Nature.* 1998;394(6695):790-3.
 22. **Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al.** Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med.* 1997;3(9):1029-33.
 23. **Morash B, Li A, Murphy PR, Wilkinson M, Ur E.** Leptin gene expression in the brain and pituitary gland. *Endocrinology.* 1999;140(12):5995-8.
 24. **Akerman F, Lei ZM, Rao CV.** Human umbilical cord and fetal membranes co-express leptin and its receptor genes. *Gynecol Endocrinol.* 2002;16(4):299-306.
 25. **Baratta M.** Leptin--from a signal of adiposity to a hormonal mediator in peripheral tissues. *Med Sci Monit.* 2002;8(12):RA282-92.
 26. **Bjorbaek C, Kahn BB.** Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog Horm Res.* 2004;59:305-31.
 27. **Fruhbeck G.** Peripheral actions of leptin and its involvement in disease. *Nutrition reviews.* 2002;60(10 Pt 2):S47-55; discussion S68-84, 5-7.
 28. **Harvey J, Ashford ML.** Leptin in the CNS: much more than a satiety signal. *Neuropharmacology.* 2003;44(7):845-54.
 29. **Muoio DM, Lynis Dohm G.** Peripheral metabolic actions of leptin. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2002;16(4):653-66.
 30. **Steinberg GR, Dyck DJ.** Development of leptin resistance in rat soleus muscle in response to high-fat diets. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;279(6):E1374-82.
 31. **Argiles JM, Lopez-Soriano J, Almendro V, Busquets S, Lopez-Soriano FJ.** Cross-talk between skeletal muscle and adipose tissue: a link with obesity? *Med Res Rev* 2005;25(1):49-65.
 32. **Berti L, Gammeltoft S.** Leptin stimulates glucose uptake in C2C12 muscle cells by activation of ERK2. *Mol Cell Endocrinol* 1999 (abstract);157(1-2):121-30.
 33. **Ceddia RB, William WN Jr, Curi R.** The response of skeletal muscle to leptin. *Front Biosci.* 2001;6:D90-7.
 34. **Steinberg GR, Parolin ML, Heigenhauser GJ, Dyck DJ.** Leptin increases FA oxidation in lean but not obese human skeletal muscle: evidence of peripheral leptin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;283(1):E187-92.
 35. **Yaspelkis BB, 3rd, Davis JR, Saberi M, Smith TL, Jazayeri R, Singh M, et al.** Leptin administration improves skeletal muscle insulin responsiveness in

- diet-induced insulin-resistant rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;280(1):E130-42.
36. **Fruhbeck G.** Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J.* 2006;393(Pt 1):7-20.
 37. **Gallagher D, Kuznia P, Heshka S, Albu J, Heymsfield SB, Goodpaster B, et al.** Adipose tissue in muscle: a novel depot similar in size to visceral adipose tissue. *Am J Clin Nutr.* 2005;81(4):903-10.
 38. **Guerra B, Santana A, Fuentes T, Delgado-Guerra S, Cabrera-Socorro A, Dorado C, et al.** Leptin receptors in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2007;102(5):1786-92.
 39. **Tartaglia LA.** The leptin receptor. *J Biol Chem.* 1997;272(10):6093-6.
 40. **White DW, Tartaglia LA.** Leptin and OB-R: body weight regulation by a cytokine receptor. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1996;7(4):303-9.
 41. **Chua SC, Jr., Koutras IK, Han L, Liu SM, Kay J, Young SJ, et al.** Fine structure of the murine leptin receptor gene: splice site suppression is required to form two alternatively spliced transcripts. *Genomics.* 1997;45(2):264-70.
 42. **Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, et al.** Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature.* 1996;379(6566):632-5.
 43. **Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, et al.** Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell.* 1995;83(7):1263-71.
 44. **Chua SC, Jr., Chung WK, Wu-Peng XS, Zhang Y, Liu SM, Tartaglia L, et al.** Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science.* 1996;271(5251):994-6.
 45. **Cohen P, Zhao C, Cai X, Montez JM, Rohani SC, Feinstein P, et al.** Selective deletion of leptin receptor in neurons leads to obesity. *J Clin Invest.* 2001;108(8):1113-21.
 46. **Burguera B, Couce ME, Long J, Lamsam J, Lakso K, Jensen MD, et al.** The long form of the leptin receptor (OB-Rb) is widely expressed in the human brain. *Neuroendocrinology* 2000;71(3):187-95.
 47. **Hileman SM, Pierroz DD, Masuzaki H, Bjorbaek C, El-Haschimi K, Banks WA, et al.** Characterization of short isoforms of the leptin receptor in rat cerebral microvessels and of brain uptake of leptin in mouse models of obesity. *Endocrinology* 2002;143(3):775-83.
 48. **Lammert A, Kiess W, Bottner A, Glasow A, Kratzsch J.** Soluble leptin receptor represents the main leptin binding activity in human blood. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;283(4):982-8.
 49. **Chan JL, Bluher S, Yiannakouris N, Suchard MA, Kratzsch J, Mantzoros CS.** Regulation of circulating soluble leptin receptor levels by gender, adiposity, sex steroids, and leptin: observational and interventional studies in humans. *Diabetes* 2002;51(7):2105-12.
 50. **Ahima RS, Osei SY.** Leptin signaling. *Physiol Behav.* 2004;81(2):223-41.
 51. **Hegyí K, Fulop K, Kovacs K, Toth S, Falus A.** Leptin-induced signal transduction pathways. *Cell Biol Int.* 2004;28(3):159-69.
 52. **Sahu A.** Leptin signaling in the hypothalamus: emphasis on energy homeostasis and leptin resistance. *Front Neuroendocrinol.* 2003;24(4):225-53.
 53. **Sweeney G.** Leptin signalling. *Cellular signalling.* 2002;14(8):655-63.
 54. **Ihle JN, Kerr IM.** Jaks and Stats in signaling by the cytokine receptor superfamily. *Trends Genet.* 1995;11(2):69-74.
 55. **Ghilardi N, Skoda RC.** The leptin receptor activates janus kinase 2 and signals for proliferation in a factor-dependent cell line. *Mol Endocrinol.* 1997;11(4):393-9.
 56. **White DW, Kuropatwinski KK, Devos R, Baumann H, Tartaglia LA.** Leptin receptor (OB-R) signaling. Cytoplasmic domain mutational analysis and evidence for receptor homo-oligomerization. *J Biol Chem.* 1997;272(7):4065-71.
 57. **Bahrenberg G, Behrmann I, Barthel A, Hekerman P, Heinrich PC, Joost HG, et al.** Identification of the critical sequence elements in the cytoplasmic domain of leptin receptor isoforms required for Janus kinase/signal transducer and activator of transcription activation by receptor heterodimers. *Mol Endocrinol.* 2002;16(4):859-72.
 58. **Kloek C, Haq AK, Dunn SL, Lavery HJ, Banks AS, Myers MG, Jr.** Regulation of Jak kinases by intracellular leptin receptor sequences. *J Biol Chem.* 2002;277(44):41547-55.

59. Kellerer M, Koch M, Metzinger E, Mushack J, Capp E, Haring HU. Leptin activates PI-3 kinase in C2C12 myotubes via janus kinase-2 (JAK-2) and insulin receptor substrate-2 (IRS-2) dependent pathways. *Diabetologia*. 1997;40(11):1358-62.
60. Bjorbaek C, Uotani S, da Silva B, Flier JS. Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J Biol Chem* 1997;272(51):32686-95.
61. Uotani S, Abe T, Yamaguchi Y. Leptin activates AMP-activated protein kinase in hepatic cells via a JAK2-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;351(1):171-5.
62. Banks AS, Davis SM, Bates SH, Myers MG Jr. Activation of downstream signals by the long form of the leptin receptor. *J Biol Chem*. 2000;275(19):14563-72.
63. Li C, Friedman JM. Leptin receptor activation of SH2 domain containing protein tyrosine phosphatase 2 modulates Ob receptor signal transduction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(17):9677-82.
64. Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH, Skoda RC. Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(13):6231-5.
65. Vaisse C, Halaas JL, Horvath CM, Darnell JE, Jr., Stoffel M, Friedman JM. Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice. *Nat Genet*. 1996;14(1):95-7.
66. Bjorbaek C, Buchholz RM, Davis SM, Bates SH, Pierroz DD, Gu H, et al. Divergent roles of SHP-2 in ERK activation by leptin receptors. *J Biol Chem*. 2001;276(7):4747-55.
67. Bates SH, Stearns WH, Dundon TA, Schubert M, Tso AW, Wang Y, et al. STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction. *Nature*. 2003;421(6925):856-9.
68. Hakansson ML, Meister B. Transcription factor STAT3 in leptin target neurons of the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology*. 1998;68(6):420-7.
69. Kim YB, Uotani S, Pierroz DD, Flier JS, Kahn BB. In vivo administration of leptin activates signal transduction directly in insulin-sensitive tissues: overlapping but distinct pathways from insulin. *Endocrinology*. 2000;141(7):2328-39.
70. Maroni P, Bendinelli P, Piccoletti R. Early intracellular events induced by in vivo leptin treatment in mouse skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol*. 2003;201(1-2):109-21.
71. Mehebiek N, Jaubert AM, Sabourault D, Giudicelli Y, Ribiere C. Leptin-induced nitric oxide production in white adipocytes is mediated through PKA and MAP kinase activation. *American journal of physiology*. 2005;289(2):C379-87.
72. Maroni P, Bendinelli P, Piccoletti R. Intracellular signal transduction pathways induced by leptin in C2C12 cells. *Cell Biol Int*. 2005;29(7):542-50.
73. Creer A, Gallagher P, Slivka D, Jemiolo B, Fink W, Trappe S. Influence of muscle glycogen availability on ERK1/2 and Akt signaling after resistance exercise in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2005;99(3):950-6.
74. Benomar Y, Roy AF, Aubourg A, Djiane J, Taouis M. Cross down-regulation of leptin and insulin receptor expression and signalling in a human neuronal cell line. *Biochem J*. 2005;388(Pt 3):929-39.
75. Niswender KD, Morton GJ, Stearns WH, Rhodes CJ, Myers MG, Jr., Schwartz MW. Intracellular signalling. Key enzyme in leptin-induced anorexia. *Nature*. 2001;413(6858):794-5.
76. Rahmouni K, Haynes WG, Morgan DA, Mark AL. Intracellular mechanisms involved in leptin regulation of sympathetic outflow. *Hypertension*. 2003;41(3 Pt 2):763-7.
77. Frosig C, Rose AJ, Treebak JT, Kiens B, Richter EA, Wojtaszewski JF. Effects of endurance exercise training on insulin signaling in human skeletal muscle: interactions at the level of phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, and AS160. *Diabetes*. 2007;56(8):2093-102.
78. Frosig C, Sajan MP, Maarbjerg SJ, Brandt N, Roepstorff C, Wojtaszewski JF, et al. Exercise improves phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate responsiveness of atypical protein kinase C and interacts with insulin signalling to peptide elongation in human skeletal muscle. *J Physiol*. 2007;582(Pt 3):1289-301.
79. Kirwan JP, del Aguila LF, Hernandez JM, Williamson DL, O'Gorman DJ, Lewis R, et al. Regular exercise enhances insulin activation of IRS-1-associated PI3-kinase in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2000;88(2):797-803.
80. Carling D, Zammit VA, Hardie DG. A common bicyclic protein kinase cascade inactivates the

- regulatory enzymes of fatty acid and cholesterol biosynthesis. *FEBS Lett.* 1987;223(2):217-22.
81. Carlson CA, Kim KH. Regulation of hepatic acetyl coenzyme A carboxylase by phosphorylation and dephosphorylation. *J Biol Chem* 1973;10;248(1):378-80.
 82. Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab* 2005;1(1):15-25.
 83. Mahlapuu M, Johansson C, Lindgren K, Hjalml G, Barnes BR, Krook A, et al. Expression profiling of the gamma-subunit isoforms of AMP-activated protein kinase suggests a major role for gamma3 in white skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286(2):E194-200.
 84. Barnes BR, Marklund S, Steiler TL, Walter M, Hjalml G, Amarger V, et al. The 5'-AMP-activated protein kinase gamma3 isoform has a key role in carbohydrate and lipid metabolism in glycolytic skeletal muscle. *J Biol Chem* 2004;279(37):38441-7.
 85. Steinberg GR, Jorgensen SB. The AMP-Activated Protein Kinase: Role in Regulation of Skeletal Muscle Metabolism and Insulin Sensitivity. *Mini reviews in medicinal chemistry* 2007;7(5):519-26.
 86. Viollet B, Andreelli F, Jorgensen SB, Perrin C, Geloan A, Flamez D, et al. The AMP-activated protein kinase alpha2 catalytic subunit controls whole-body insulin sensitivity. *J Clin Invest.* 2003;111(1):91-8.
 87. Wojtaszewski JF, Birk JB, Frosig C, Holten M, Pilegaard H, Dela F. 5'AMP activated protein kinase expression in human skeletal muscle: effects of strength training and type 2 diabetes. *J Physiol* 2005;564(Pt 2):563-73.
 88. Fujii N, Hayashi T, Hirshman MF, Smith JT, Habinowski SA, Kaijser L, et al. Exercise induces isoform-specific increase in 5'AMP-activated protein kinase activity in human skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;273(3):1150-5.
 89. Hawley SA, Boudeau J, Reid JL, Mustard KJ, Udd L, Makela TP, et al. Complexes between the LKB1 tumor suppressor, STRAD alpha/beta and MO25 alpha/beta are upstream kinases in the AMP-activated protein kinase cascade. *J Biol.* 2003;2(4):28.
 90. Hong JL, Ho CY, Kwong K, Lee LY. Activation of pulmonary C fibres by adenosine in anaesthetized rats: role of adenosine A1 receptors. *J Physiol.* 1998;508(Pt 1):109-18.
 91. Ponticos M, Lu QL, Morgan JE, Hardie DG, Partridge TA, Carling D. Dual regulation of the AMP-activated protein kinase provides a novel mechanism for the control of creatine kinase in skeletal muscle. *Embo J* 1998;17(6):1688-99.
 92. Sakamoto K, McCarthy A, Smith D, Green KA, Grahame Hardie D, Ashworth A, et al. Deficiency of LKB1 in skeletal muscle prevents AMPK activation and glucose uptake during contraction. *Embo J* 2005;24(10):1810-20.
 93. Adams J, Chen ZP, Van Denderen BJ, Morton CJ, Parker MW, Witters LA, et al. Intracellular control of AMPK via the gamma1 subunit AMP allosteric regulatory site. *Protein Sci* 2004;13(1):155-65.
 94. Scott JW, Hawley SA, Green KA, Anis M, Stewart G, Scullion GA, et al. CBS domains form energy-sensing modules whose binding of adenosine ligands is disrupted by disease mutations. *J Clin Invest* 2004;113(2):274-84.
 95. Davies SP, Helps NR, Cohen PT, Hardie DG. 5'-AMP inhibits dephosphorylation, as well as promoting phosphorylation, of the AMP-activated protein kinase. Studies using bacterially expressed human protein phosphatase-2C alpha and native bovine protein phosphatase-2AC. *FEBS Lett.* 1995;377(3):421-5.
 96. Cheung PC, Salt IP, Davies SP, Hardie DG, Carling D. Characterization of AMP-activated protein kinase gamma-subunit isoforms and their role in AMP binding. *Biochem J.* 2000;346 Pt 3:659-69.
 97. Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, Fryer LG, Muller C, Carling D, et al. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature.* 2002;415(6869):339-43.
 98. Tanaka T, Hidaka S, Masuzaki H, Yasue S, Minokoshi Y, Ebihara K, et al. Skeletal muscle AMP-activated protein kinase phosphorylation parallels metabolic phenotype in leptin transgenic mice under dietary modification. *Diabetes.* 2005;54(8):2365-74.
 99. Ruderman NB, Saha AK, Vavvas D, Witters LA. Malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. *Am J Physiol.* 1999;276(1 Pt 1):E1-E18.
 100. Treebak JT, Birk JB, Rose AJ, Kiens B, Richter EA, Wojtaszewski JF. AS160 phosphorylation is associated with activation of alpha2beta-

- 2gamma1- but not alpha2beta2gamma3-AMPK trimeric complex in skeletal muscle during exercise in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292(3):E715-22.
101. Larance M, Ramm G, Stockli J, van Dam EM, Winata S, Wasinger V, *et al.* Characterization of the role of the Rab GTPase-activating protein AS160 in insulin-regulated GLUT4 trafficking. *J Biol Chem* 2005;280(45):37803-13.
 102. Kishi K, Yuasa T, Minami A, Yamada M, Hagi A, Hayashi H, *et al.* AMP-Activated protein kinase is activated by the stimulations of G(q)-coupled receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276(1):16-22.
 103. Steinberg GR, Smith AC, Wormald S, Malenfant P, Collier C, Dyck DJ. Endurance training partially reverses dietary-induced leptin resistance in rodent skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286(1):E57-63.
 104. Bandyopadhyay GK, Yu JG, Ofrecio J, Olefsky JM. Increased malonyl-CoA levels in muscle from obese and type 2 diabetic subjects lead to decreased fatty acid oxidation and increased lipogenesis; thiazolidinedione treatment reverses these defects. *Diabetes* 2006;55(8):2277-85.
 105. Wojtaszewski JF, Nielsen P, Hansen BF, Richter EA, Kiens B. Isoform-specific and exercise intensity-dependent activation of 5'-AMP-activated protein kinase in human skeletal muscle. *J Physiol* 2000;528 Pt 1:221-6.
 106. Wojtaszewski JF, Mourtzakis M, Hillig T, Saltin B, Pilegaard H. Dissociation of AMPK activity and ACCbeta phosphorylation in human muscle during prolonged exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;298(3):309-16.
 107. Stephens TJ, Chen ZP, Canny BJ, Michell BJ, Kemp BE, McConell GK. Progressive increase in human skeletal muscle AMPKalpha2 activity and ACC phosphorylation during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;282(3):E688-94.
 108. Birk JB, Wojtaszewski JF. Predominant alpha2/beta2/gamma3 AMPK activation during exercise in human skeletal muscle. *J Physiol* 2006;577(Pt 3):1021-32.
 109. Roepstorff C, Thiele M, Hillig T, Pilegaard H, Richter EA, Wojtaszewski JF, *et al.* Higher skeletal muscle alpha2AMPK activation and lower energy charge and fat oxidation in men than in women during submaximal exercise. *J Physiol* 2006;574(Pt 1):125-38.
 110. Bjorbaek C, El-Haschimi K, Frantz JD, Flier JS. The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. *J Biol Chem* 1999;274(42):30059-65.
 111. Eyckerman S, Broekaert D, Verhee A, Vandekerckhove J, Tavernier J. Identification of the Y985 and Y1077 motifs as SOCS3 recruitment sites in the murine leptin receptor. *FEBS Lett* 2000;486(1):33-7.
 112. Bjorbaek C, Lavery HJ, Bates SH, Olson RK, Davis SM, Flier JS, *et al.* SOCS3 mediates feedback inhibition of the leptin receptor via Tyr985. *J Biol Chem* 2000;275(51):40649-57.
 113. Munzberg H, Myers MG, Jr. Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nat Neurosci* 2005;8(5):566-70.
 114. Myers MG, Jr. Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology. *Recent Prog Horm Res* 2004;59:287-304.
 115. Dunn SL, Bjornholm M, Bates SH, Chen Z, Seifert M, Myers MG, Jr. Feedback inhibition of leptin receptor/Jak2 signaling via Tyr1138 of the leptin receptor and suppressor of cytokine signaling 3. *Mol Endocrinol* 2005;19(4):925-38.
 116. Bates SH, Myers MG, Jr. The role of leptin receptor signaling in feeding and neuroendocrine function. *Trends Endocrinol Metab* 2003;14(10):447-52.
 117. Cook WS, Unger RH. Protein tyrosine phosphatase 1B: a potential leptin resistance factor of obesity. *Developmental cell* 2002;2(4):385-7.
 118. Kaszubska W, Falls HD, Schaefer VG, Haasch D, Frost L, Hessler P, *et al.* Protein tyrosine phosphatase 1B negatively regulates leptin signaling in a hypothalamic cell line. *Mol Cell Endocrinol* 2002;195(1-2):109-18.
 119. Zabolotny JM, Bence-Hanulec KK, Stricker-Krongrad A, Haj F, Wang Y, Minokoshi Y, *et al.* PTP1B regulates leptin signal transduction in vivo. *Developmental cell* 2002;2(4):489-95.
 120. Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, Cromlish W, Collins S, Loy AL, *et al.* Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. *Science* 1999;283(5407):1544-8.

121. Klamann LD, Boss O, Peroni OD, Kim JK, Martino JL, Zabolotny JM, et al. Increased energy expenditure, decreased adiposity, and tissue-specific insulin sensitivity in protein-tyrosine phosphatase 1B-deficient mice. *Mol Cell Biol*. 2000;20(15):5479-89.
122. Chen K, Li F, Li J, Cai H, Strom S, Bisello A, et al. Induction of leptin resistance through direct interaction of C-reactive protein with leptin. *Nat Med*. 2006;12(4):425-32.
123. Ren D, Li M, Duan C, Rui L. Identification of SH2-B as a key regulator of leptin sensitivity, energy balance, and body weight in mice. *Cell Metab*. 2005;2(2):95-104.
124. Aranceta J, Perez Rodrigo C, Serra Majem L, Ribas Barba L, Quiles Izquierdo J, Vioque J, et al. Prevalence of obesity in Spain: results of the SEEDO 2000 study. *Med Clin (Barc)*. 2003;120(16):608-12.
125. Gutierrez-Fisac JL, Regidor E, Banegas JR, Rodriguez Artalejo F. Prevalence of obesity in the Spanish adult population: 14 years of continuous increase. *Med Clin (Barc)*. 2005;124(5):196-7.
126. Rodriguez Artalejo F, Lopez Garcia E, Gutierrez-Fisac JL, Banegas Banegas JR, Lafuente Urdinguio PJ, Dominguez Rojas V. Changes in the prevalence of overweight and obesity and their risk factors in Spain, 1987-1997. *Prev Med*. 2002;34(1):72-81.
127. Ara I, Vicente-Rodriguez G, Perez-Gomez J, Jimenez-Ramirez J, Serrano-Sanchez JA, Dorado C, et al. Influence of extracurricular sport activities on body composition and physical fitness in boys: a 3-year longitudinal study. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30(7):1062-71.
128. Ara I, Vicente-Rodriguez G, Jimenez-Ramirez J, Dorado C, Serrano-Sanchez JA, Calbet JA. Regular participation in sports is associated with enhanced physical fitness and lower fat mass in prepubertal boys. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28(12):1585-93.
129. Bar-Or O, Foreyt J, Bouchard C, Brownell KD, Dietz WH, Ravussin E, et al. Physical activity, genetic, and nutritional considerations in childhood weight management. *Med Sci Sports Exerc*. 1998;30(1):2-10.
130. Blair SN, Church TS. The fitness, obesity, and health equation: is physical activity the common denominator? *JAMA*. 2004;292(10):1232-4.
131. Borodulin K, Laatikainen T, Lahti-Koski M, Lakka TA, Laukkanen R, Sarna S, et al. Associations between estimated aerobic fitness and cardiovascular risk factors in adults with different levels of abdominal obesity. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2005;12(2):126-31.
132. Lobstein T, Baur L, Uauy R. Obesity in children and young people: a crisis in public health. *Obes Rev*. 2004;5 Suppl 1:4-104.
133. Villeneuve PJ, Morrison HI, Craig CL, Schaubel DE. Physical activity, physical fitness, and risk of dying. *Epidemiology* 1998;9(6):626-31.
134. Ara I, Perez-Gomez J, Vicente-Rodriguez G, Chavarren J, Dorado C, Calbet JA. Serum free testosterone, leptin and soluble leptin receptor changes in a 6-week strength-training programme. *The British journal of nutrition*. 2006;96(6):1053-9.
135. Hu FB, Willett WC, Li T, Stampfer MJ, Colditz GA, Manson JE. Adiposity as compared with physical activity in predicting mortality among women. *N Engl J Med*. 2004;351(26):2694-703.
136. Pedersen BK. Body mass index-independent effect of fitness and physical activity for all-cause mortality. *Scand J Med Sci Sports*. 2007;17(3):196-204.
137. Dumortier M, Brandou F, Perez-Martin A, Fedou C, Mercier J, Brun JF. Low intensity endurance exercise targeted for lipid oxidation improves body composition and insulin sensitivity in patients with the metabolic syndrome. *Diabetes Metab* 2003;29(5):509-18.
138. Rimbert V, Boirie Y, Bedu M, Hocquette JF, Ritz P, Morio B. Muscle fat oxidative capacity is not impaired by age but by physical inactivity: association with insulin sensitivity. *Faseb J*. 2004;18(6):737-9.
139. Roepstorff C, Helge JW, Vistisen B, Kiens B. Studies of plasma membrane fatty acid-binding protein and other lipid-binding proteins in human skeletal muscle. *Proc Nutr Soc*. 2004;63(2):239-44.
140. Pasmán WJ, Westerterp-Plantenga MS, Saris WH. The effect of exercise training on leptin levels in obese males. *Am J Physiol*. 1998;274(2 Pt 1):E280-6.