



SABER. Revista Multidisciplinaria del  
Consejo de Investigación de la  
Universidad de Oriente

ISSN: 1315-0162

saber@udo.edu.ve

Universidad de Oriente  
Venezuela

Salazar-Lugo, Raquel  
METABOLISMO DEL HIERRO, INFLAMACIÓN Y OBESIDAD  
SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de  
Oriente, vol. 27, núm. 1, enero-marzo, 2015, pp. 5-16  
Universidad de Oriente  
Cumaná, Venezuela

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427739474002>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica  
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



## METABOLISMO DEL HIERRO, INFLAMACIÓN Y OBESIDAD

### METABOLISM OF IRON, INFLAMMATION AND OBESITY

RAQUEL SALAZAR-LUGO

*Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis, Postgrado de Biología Aplicada, Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad, Cumaná, Venezuela*  
E-mail: raquelugove@yahoo.com

#### RESUMEN

El hierro es el metal que dirige el metabolismo oxidoreductor de los seres vivos. Juega un papel central en el transporte de oxígeno y de dióxido de carbono, siendo cofactor esencial de un número considerable de proteínas críticas que regulan todos los aspectos de la fisiología celular y corporal. Sin embargo, dado a sus características químicas como elemento activo redox, también juega un papel clave en el daño inducido por las especies reactivas de oxígeno (EROs) en los tejidos y en los procesos inflamatorios. Por esta razón, el metal es estrictamente regulado por los organismos. En esta revisión se discuten los aspectos más recientes relacionados con el metabolismo del hierro y su impacto en los procesos inflamatorios con hincapié en la obesidad, la cual es una de las epidemias más importantes a combatir en el mundo.

**PALABRAS CLAVE:** Hefcidina, proteína reguladora del hierro, IRP.

#### ABSTRACT

Iron is the metal that leads the redox metabolism of living beings. It plays a central role in the transport of oxygen and carbon dioxide, and it is an essential cofactor of a large number of critical proteins that regulate all aspects of the body and cellular physiology. However, due to its chemical properties as redox active element it also plays a key role in the damage induced by reactive species of oxygen (RSOs) in tissues and during inflammatory processes. For this reason, the metal is strictly regulated by organisms. In this review, the most recent aspects related to iron metabolism and its impact on inflammatory processes are discussed, with emphasis on obesity, which is one of the most important epidemics to fight against worldwide.

**KEY WORDS:** Hefcidin, iron regulatory protein, IRP.

#### INTRODUCCIÓN

El hierro es el cuarto elemento más abundante del planeta tierra formando parte del corazón interno y externo de la misma. Este hierro en el centro del planeta genera una magnetósfera a su alrededor protegiéndola de la radiación y de los vientos solares. Muchos animales, desde bacterias hasta mamíferos, utilizan este campo magnético para su orientación debido a que poseen ferromagnetita en células sensoriales, las cuales usan como un compás para detectar y orientarse alineándose con el campo magnético (Wiltshko y Wiltshko 2005, Holland *et al.* 2008, Cardiou y McNaughton 2010). Se ha postulado una teoría electromagnética de la conciencia en donde el hierro juega un papel central como elemento abundante en el cerebro; esta teoría dice que el campo electromagnético generado por el cerebro es el portador de la experiencia consciente (McFadden 2007). De ser o no cierta esta teoría, lo que sí está demostrado es que la acumulación de hierro en el cerebro, lo cual ocurre en la ferritina, proteína que presenta un centro magnético, define una serie de enfermedades neurodegenerativas (Popławska-Domaszewicz *et al.* 2014).

Por otro lado, existe una asociación entre la

disminución de las concentraciones de hierro sistémico y una gran cantidad de anomalías fisiológicas entre las que están retraso en el desarrollo, reducción en la resistencia física y en la capacidad cognitiva, disfunción inmune y deterioro de la termorregulación (Patterson *et al.* 2000, Brownlie *et al.* 2004, Agarwal 2007).

Se puede decir que la vida, tal y como se conoce en la tierra actual está creada alrededor de las características de este metal. La flexible química de coordinación del hierro y su reactividad redox lo hacen el metal ejecutor de casi todas las actividades bioquímicas fundamentales de las células tales como el transporte de oxígeno, el metabolismo energético y la síntesis de ADN. El hierro puede asociarse con proteínas y unirse al oxígeno, transferir electrones o mediar reacciones catalíticas. En esta revisión se discute los últimos trabajos en los cuales se involucra el papel del hierro en la patogenia de muchas enfermedades.

#### El hierro en la vida

Bajo las condiciones anóxicas primitivas de la tierra, el FeII era estable y la concentración de este ion en el océano era muy alta (50  $\mu\text{mol/L}$ ). En ausencia de oxígeno

el cobre (elemento capaz de transferencia de electrones en las reacciones) existió en forma insoluble (CuI). Esta abundancia del Fe en el planeta podría explicar la importancia del mismo en el surgimiento de la vida.

Wachtershauser (1990) plantea una hipótesis para el surgimiento de la vida sobre la tierra llamada la hipótesis del mundo Fe-S. Cuando el hierro comenzó a disminuir su biodisponibilidad producto de la generación de oxígeno por las cianobacterias, la vida sobre la tierra cambió drásticamente. Bajo este nuevo ambiente, la oxidación del CuI a CuII aumentó su solubilidad y por consiguiente evolucionaron las reacciones biológicas catalizadas por el cobre. Aquellas formas de vida dependientes exclusivamente del hierro se extinguieron y las que sobrevivieron desarrollaron mecanismos para manejar el FeIII y reducirlo a FeII.

Sin embargo, estas nuevas formas de vida, ahora tenían que enfrentar un nuevo reto, y es que bajo este nuevo ambiente cargado de oxígeno molecular, el ion FeII puede reaccionar con el oxígeno produciendo especies reactivas del oxígeno (EROs) a través de la secuencia de reacciones Haber-Weiss-Fenton. Los organismos que desarrollaron estructuras que les permitiera adquirir, transferir y almacenar este metal sobrevivieron. Es así como se genera una intrincada red para el manejo de este metal en condiciones en las cuales puede fácilmente ser oxidado y por lo tanto hacerse no disponible.

A pesar de las limitaciones que representaba el uso de este elemento para el mantenimiento de la vida bajo el ambiente aeróbico, son muchas las ventajas que presenta. Localizado en el medio de la tabla periódica, el Fe es un metal que existe en diferentes estados de transición que van desde -II como en el anión  $\text{Fe}(\text{CO})_4^{2-}$  hasta +VI como en el ión ferrato  $\text{FeO}_4^{2-}$ . Bioquímicamente los más relevantes estados de oxidación son el FeII y FeIII. Aunque FeIV y FeV se encuentran como intermediarios en procesos enzimáticos; el potencial de la dupla FeIII/FeII (0,77V)<sup>2</sup> puede variar por encima de 1V en respuesta a diferentes ambientes particularmente cuando están influenciados por ligandos de coordinación que se unen a proteínas. Esta variabilidad en el potencial redox contribuye significativamente en el rol del Fe como metal biológico esencial debido a que la transferencia de electrones facilitada por el mismo es reversible dentro del rango de oxidantes y reductantes biológicos (+0,82V hasta -0,32V, para  $\text{O}_2$  y nucleótidos de piridina, respectivamente).

Adicional a esto, está bien establecido el rol del hierro en el transporte de oxígeno y de dióxido de carbono como

parte estructural de la hemoglobina, además el hierro es un cofactor esencial de un número considerable de proteínas críticas que regulan todos los aspectos de la fisiología celular y corporal dentro de estas, proteínas involucradas en la respiración mitocondrial y la producción de energía proteínas, involucradas en la replicación y reparación del ADN, biosíntesis de proteínas y de lípidos y de proteínas que forman parte de la maquinaria antioxidante y de detoxificación del organismo (Wilson y Treeder 2008, Leidgens *et al.* 2013, Grodick *et al.* 2014).

En los humanos, la mayoría del hierro (2,1 g) está en la hemoglobina, 600 mg en los macrófagos, aproximadamente 300 mg se encuentran en la mioglobina del músculo y 1 g es almacenado en el hígado. Los mamíferos no poseen un mecanismo regulador para la excreción de hierro en el cuerpo; el balance se mantiene por la fuerte absorción de hierro en el duodeno (Gkouvatsos *et al.* 2012).

### Manejo de hierro por el organismo

Tomando como modelo los estudios de hierro en mamíferos, se conoce que la captura de hierro inorgánico proveniente de la dieta, involucra reducción de FeIII en el lumen intestinal por reductasas férricas (Dcytb, citocromo b duodenal) y el subsiguiente transporte a través de la membrana apical del enterocito por el transportador divalente DMT1. El hierro unido al grupo hemo y que ingresa por la dieta entra al enterocito por un mecanismo hasta hoy desconocido y luego dentro, es metabolizado por la oxigenasa HO-1 para liberar el FeII. El hierro en el enterocito es exportado, a la sangre, a través de la membrana basolateral por medio de una proteína llamada ferroportina, que interacciona, en su lado extracelular con otra proteína (hefastina) cuya función es oxidar el FeII a FeIII; de esa forma se inactiva el Fe para su transporte plasmático por la proteína transferrina que lo lleva a los tejidos (Steinbicker y Muckenthaler 2013, Fig. 1).

El mecanismo para mantener la homeostasis de hierro en una célula es distinto de la regulación sistémica. Para asegurar el contenido adecuado de hierro las células de mamíferos regulan su concentración a través de la captura y exportación del metal (Anderson y Vulpe 2009).

El FeIII unido a transferrina llega a las células blancas por interacción con el receptor que se encuentra en la membrana plasmática de las células blanco (macrófagos, hepatocitos, adipocitos) este complejo ( $\text{TfFeIII-RTf}$ ) es internalizado por endocitosis formándose un endosoma, en el cual el pH es disminuido por la

actividad de la V-ATPasa facilitándose la liberación del FeIII del complejo, quién en estas condiciones se reduce a FeII por acción de la metaloreductasa STEAP3 y es exportado del endosoma a través de las proteínas DMT1 o Nramp2 utilizando el gradiente de protones como la fuerza protomotriz que maneja su salida. Una vez que el Fe se encuentra en el citosol es incorporado a proteínas que contienen Fe, transportado a la mitocondria para la biosíntesis de hemo y de los complejos Fe-S de las proteínas; o también almacenado en complejos multiméricos de ferritina (Pantopoulos *et al.* 2012). La ferritina, es una proteína formada por dos tipos de subunidades (H) y (L). La subunidad H tiene actividad ferroxidasa y las L-ferritina promueven la nucleación eficiente y mineralización del Fe. Los niveles de estas dos cadenas de ferritina varían dependiendo del tipo de tejido; en el corazón prevalece la forma H y en el hígado la L (Theil 2011). Finalmente, el hierro puede salir de la célula a través del transportador ferroportina el cual se encuentra asociado con una feroreductasa llamada ceruloplasmina la cual se encarga de oxidar nuevamente el Fe para su transporte por la transferrina en la sangre (Fig. 2).

Aunque la transferrina plasmática se mantiene 1/3 saturada del metal y el contenido de Fe en la transferrina es de 0,1% del hierro total en el cuerpo (3 mg), la concentración del metal en esta proteína es altamente dinámica. De tal forma que el pool de hierro en la transferrina es mantenido principalmente por el eflujo

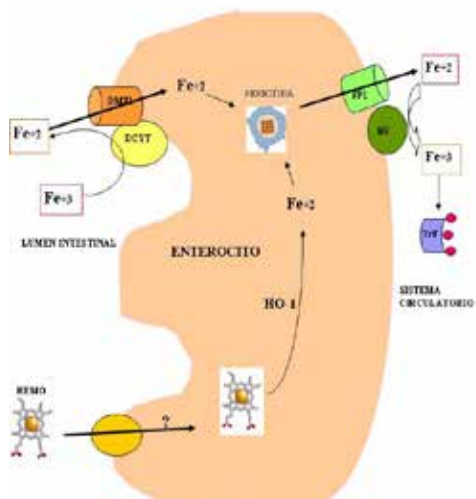


Figura 1. Captura de hierro de la dieta por el enterocito. El hierro inorgánico es reducido por la feroreductasa (FYCD) entra al enterocito a través del receptor de metales (DMT1) que se encuentra en el borde de cepillo de los enterocitos, ya dentro de este puede ser almacenado en la ferritina o exportado al sistema circulatorio a través del transportador ferroportina (Fp) localizado en la membrana apical del enterocito, una feroreductasa acoplada a Fp lo oxida (HF: hefastina) para que sea incorporado a la transferrina su transportador en la sangre.

de hierro de los macrófagos proveniente de eritrocitos envejecidos y fagocitados por estas células y en menor grado por el Fe de la dieta capturado por los enterocitos (Fig. 3). Existen dos tipos de receptores de transferrina los RTf1 y RTf2; el primero se encuentra en macrófagos y otros tipos de células y el segundo en los hepatocitos. El hierro unido a la transferrina interacciona en el hepatocito con el RTf2 y con la proteína HFE localizadas ambas en la membrana celular del hepatocito y a través de un proceso de señalización que involucra la ruta SMAD (proteínas homólogas a las MAD de *Drosophila*; MAD o *Mothers against decapentaplegic* and SMA o “small body size”) se regula la producción de la hormona hepcidina (Gkouvatsos *et al.* 2012).

Es importante destacar de que existe un mecanismo de transporte de Fe en el plasma independiente de la transferrina, dentro de este está el transporte de hemoglobina unida a haptoglobulina y su transporte al macrófago via el receptor CD173; el otro es el transporte de Hemo por hemopexina y su reconocimiento y entrada a los macrófagos via el receptor CD91; transporte de hierro unido a la albúmina, también el Fe se une a sideróforos (pequeñas moléculas afines a Fe tales como citrato, glutatión) por otro lado, los cardiomiocitos pueden capturar Fe a través de canales de calcio dependiente de voltaje tipo L (Tolosano y Altruda 2002, Bao *et al.* 2010, Devireddy *et al.* 2010, Sitar *et al.* 2013; Fig. 3).

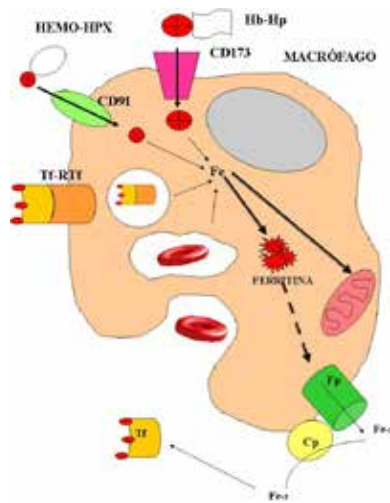


Figura 2. Los macrófagos son las células encargadas de almacenar y distribuir el hierro en el organismo. Obtienen el metal principalmente de fagocitosis de eritrocitos envejecidos (E), también de la transferrina por internalización del complejo transferrina receptor (Tf-RTf); además presentan receptores para internalizar hemoglobina (CD173) y hemo (CD91). Dentro del macrófago el hierro puede ser almacenado en la ferritina (Ferr) o transportado a la mitocondria para la construcción de los centros Fe/S y de hemo. El hierro también puede ser exportado a través de la ferroportina (Fp) una vez exportado es oxidado por la ceruloplasmina (Cp) y transportado por la transferrina (Tf) a los sitios de requerimiento del metal.

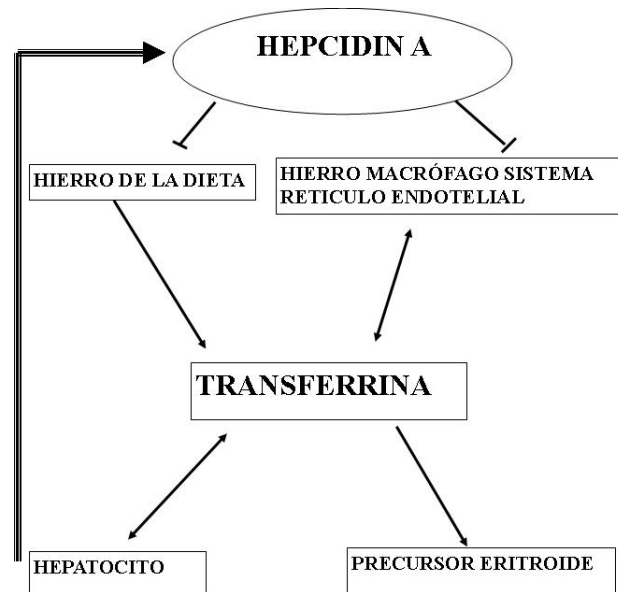


Figura 3. Papel central de la transferrina en la distribución del hierro sistémico y su control hormonal.

La fuerte regulación de la entrada, salida y almacenaje de hierro es crítica para prevenir la deficiencia de este vital elemento la cual ocasiona el deterioro de las funciones vitales o para evitar la sobrecarga de hierro que conlleva a la generación de radicales tóxicos.

### Control hormonal del hierro

El eflujo de Fe desde la célula (enterocitos o macrófagos) al plasma es crítico para la homeostasis

sistémica del metal y es un proceso regulado por la hormona peptídica hepcidina. Esta hormona es expresada en el hepatocito como un precursor propéptidico y se secreta en la sangre como un péptido activo de 25 aminoácidos. Los niveles de hepcidina disminuyen en la deficiencia de Fe, hipoxia o anemia inducida por flebotomía; de esta forma se promueve la liberación de hierro desde los macrófagos y su absorción desde el duodeno (Atanasiu *et al.* 2007; Fig. 4).

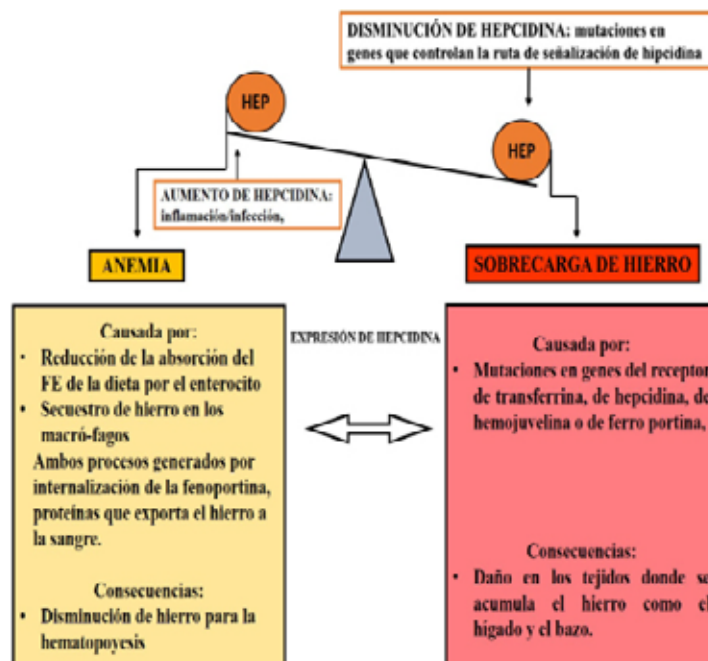


Figura 4. Esquema que representa la regulación del metabolismo del hierro por la hormona hepcidina bajo condiciones patológicas.

La expresión de hepcidina está controlada transcripcionalmente. La inducción dependiente de Fe se realiza mediante el proceso de señalización de la proteína BMP (del inglés *bone morphogenetic protein*). El Fe potencia la expresión de la BMP6 en el hígado y el intestino, la cual es secretada al plasma y de allí se une a su receptor BMPR localizado en la superficie del hepatocito generando un proceso de señalización intracelular el cual involucra la fosforilación de la proteína SMAD1/5/8 y la traslocación del SMAD4 al núcleo en donde se une al promotor de hepcidina promoviendo su transcripción (Ganz y Nemeth 2012).

Algunos cofactores se han identificado como requerimiento necesario para la activación de hepcidina dependiente de Fe entre estos: la proteína hemocromatosis (HFE) la proteína hemojuvelina (HJV), la serina proteasa unida a membrana llamada matriptasa 2. Mutaciones en la matriptasa 2 están asociadas con la anemia refractaria de hierro la cual es una enfermedad causada por sobreexpresión de hepcidina. La interleuquina 6, citoquina inflamatoria induce la transcripción de hepcidina a través de la señalización STAT3 (*signal transducer and activator of transcription* 3; Fung y Nemeth 2013). El papel de la hepcidina como reguladora de hierro está documentado en experimentos con ratones Knockout del gen de hepcidina alimentados con dieta rica en hierro en donde se ha encontrado una sobrecarga de hierro lisosomal que condujo a autofagia y moderada fibrosis hepática (Lunova *et al.* 2014).

### **Regulación del hierro dependiente del sistema IRE/IRP (*iron response element/iron regulatory protein* 1)**

El hierro dentro de la célula está manejado por proteínas regulatorias de Fe llamadas IRP1 y 2, estas son proteínas factores de transcripción que controlan la expresión de ARNm que codifican proteínas relacionadas con el metabolismo energético, del hierro y del oxígeno. Las proteínas IRP 1 y 2 se unen a regiones blancas no traducidas dentro del ARNm de las proteínas que regulan y controlan su traducción o estabilidad. Proteínas tales como la H y L ferritina, ALAS2 (sintetasa del ácido aminolevulínico 2), ferroportina; el factor inducible por hipoxia 2 $\alpha$  (HIF-2 $\alpha$ ) y otras proteínas que contengan IRE en su extremo 5' de los elementos de respuesta de su ARNm (UTR) van a ser inhibidas su traducción por la unión de las proteínas IRP con sus IRE; mientras que aquellos ARNm de proteínas como el receptor de transferrina (TRF1) y la proteína transportadora de metales DMT1, que contienen IRE en el extremo 3' de

sus sitios UTR van a ser estabilizados por las proteínas IRP y promovido su traducción (Wilkinson y Pantopoulos 2013).

La proteína IRP1 tiene una función dual de aconitasa y de factor regulador de la transcripción, presenta un centro Fe/S. En cuanto a la IRP2 no tiene función aconitasa ni centro Fe/S pero es sensible a la degradación por una ligasa ubiquitasa sensible a Fe (FBXL5) que contiene un centro Fe/S (Lill *et al.* 2006, Zhang *et al.* 2014).

La disminución de Fe intracelular hace que la IRP1 y la proteína FBXL5 pierdan sus centros Fe/S; esto activa a la IRP1 como factor de transcripción y desestabiliza a la proteína FBXL5 haciéndola sensible a la degradación; como consecuencia de esto, la IRP2 se estabiliza. La unión de IRP1/2 con IREs promueve la síntesis del receptor de transferrina (RTf) y de la DMT1, estas adaptaciones permiten aumentar la captura de Fe intracelular. Debido a que se inhibe la transcripción del ARNm de ferritina y ferroportina se evita el almacenaje del escaso hierro dentro de la ferritina y su salida de la célula a través de la ferroportina, como resultado de esto, se aumenta la concentración celular de Fe.

En células con alto contenido de Fe, las proteínas IRP no están disponibles para unirse a sus IRE en los respectivos ARNm de las proteínas que regulan, lo que conlleva a la degradación del ARNm del RTf y de la proteína DMT1 disminuyendo así la captura de hierro por la célula, al mismo tiempo, al no estar presentes las IRP se estabiliza el ARNm de ferritina aumentando el almacenamiento de Fe intracelular (Wilkinson y Pantopoulos 2014).

Estudios utilizando ratones deficientes completamente o en tejidos localizados de IRP1 y/o 2 han permitido asignar nuevas funciones fisiológicas a estas proteínas en el contexto de la homeostasis de hierro. Se ha encontrado que IRP1 es un regulador clave de la eritropoyesis y de la absorción de hierro a través del control de la traducción del factor (HIF2 $\alpha$ ). Mientras que el IRP2 parece dominar el control de la captura de hierro y la biosíntesis de hemo en las células progenitoras eritroides por la regulación de los ARNm de RTf y de ALAS2. Ratones *Irp1*<sup>-/-</sup> desarrollan policitemia e hipertensión pulmonar mientras que ratones *Irp2*<sup>-/-</sup> presentan anemia microcítica, sobrecarga de hierro en el intestino y en el hígado y defectos neurológicos. Disrupción combinada de ambos factores es incompatible con la vida (Cooperman *et al.* 2005, Anderson *et al.* 2013, Ghosh *et al.* 2013).

Estos resultados en ratones sugieren una función predominante de la proteína IRP2 en el sistema nervioso y en el eritropoyético y de la IRP1 en dirigir el balance entre la homeostasis del hierro corporal y la eritropoyesis, además de un rol crítico en los sistemas cardiovasculares y pulmonar (De-Liang *et al.* 2014). La homeostasis de estos factores que controlan y son controlados no solo por el Fe sino por NO (óxido nítrico) y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrógeno) permite entender la relación entre la inflamación, la respuesta hipóxica y el metabolismo del Fe.

### Hierro mitocondrial

Una parte importante del hierro intracelular en las células aeróbicas se encuentra en la mitocondria. La mitocondria es el organelo motor de la célula aeróbica, que juega un rol central en el metabolismo de Fe porque está involucrado en la biosíntesis del grupo Hemo y en el ensamblaje de los centros Fe-S de muchas proteínas. En la mitocondria se realiza el proceso de respiración celular (Cheng y Ristow 2013), se encuentran las rutas de señalización de muerte celular y de autofagia (Hammerman *et al.* 2004, Renault y Chipuk 2013). Muchas de las enzimas y proteínas tanto del ciclo de ácido cítrico como de la cadena transportadora de electrones son sensibles al cambio en el estado redox. Las proteínas de la cadena transportadora de electrones tienen núcleos Fe-S y grupos Hemo. Algunas enzimas mitocondriales solubles también requieren de Fe; Hemo es el cofactor de la sulfito oxidasa, importante en el metabolismo de los aminoácidos que contienen azufre. La aconitasa, enzima del ciclo del ácido cítrico tiene un centro 4Fe-4S (Sheftel *et al.* 2010, Ye y Rouault 2010).

Dentro de la mitocondria el hierro es secuestrado en la ferritina mitocondrial la cual limita el hierro para la biosíntesis de hemo y de los cluster Fe-S). Células no eritroides necesitan hemo para incorporarlo a hemoproteínas tales como los citocromos, pero el tejido eritroide tiene una alta demanda de hemo. La biosíntesis de hemo está fuertemente regulada por muchos factores dentro de estos la disponibilidad de Fe y los niveles de oxígeno (Ajioka *et al.* 2006).

La síntesis de hemo está regulada por la disponibilidad de los centros Fe-S, es así que se ha encontrado que defectos en el ensamblaje de los centros Fe-S se asocian con sobrecarga mitocondrial de hierro y desórdenes sanguíneos (Rouault y Tong 2008, Lill 2009). Como ocurre en la ataxia de Friedreich, enfermedad neurodegenerativa en la cual existe una mutación en la proteína mitocondrial

frataxina involucrada en la síntesis de los complejos Fe-S (Rotig *et al.* 1997. Los centros Fe-S pueden controlar directamente la síntesis de hemo regulando la actividad de la proteína reguladora de hierro (IRP1) la cual actúa sobre la expresión de ALAS2, enzima limitante de la síntesis de hemo en los eritroblastos (Hentze *et al.* 2004). Cuando los niveles de los centros Fe-S son bajos, IRP1 se asocia con su elemento regulador de hierro (IRE) en la región no traducida 5' (UTR) del RNAm de la ALAS2, bloqueando su traducción y la síntesis de hemo.

### El papel del hierro en la inflamación y la infección

El hierro activo redox juega un papel clave en el daño inducido por EROs en los tejidos y en los procesos inflamatorios, dado al papel de este metal en la respuesta a la hipoxia, al estrés oxidativo, a la proliferación y al metabolismo celular (Johnson *et al.* 2012).

El mayor ejemplo que permite visualizar la relación entre hierro e inflamación es la anemia de inflamación crónica, la cual se ha convertido en la causa más frecuente de anemia en el mundo y que se relaciona con enfermedades inflamatorias crónicas tales como desórdenes autoinmunes, cáncer, obesidad e infecciones crónicas y es común en pacientes sometidos a diálisis (Weiss y Goodnough 2005).

La fisiopatología subyacente implicada en la anemia de la inflamación crónica se puede resumir en tres aspectos: (i) la retención de hierro en el sistema monocito/macrófago, (ii) bloqueo de la formación y actividad de la hormona eritropoyetina (Epo), y (iii) alteración de la proliferación y diferenciación de células progenitoras eritroides (Weiss y Schett 2013). Todas las rutas que conllevan a esa patofisiología están controladas por señales inflamatorias, siendo el sistema fagocito/mononuclear el centro de tales alteraciones.

Ya se ha discutido el papel central que juega el macrófago en el mantenimiento del aporte de hierro para la eritropoyesis y para otras funciones fisiológicas (provee el 95% de las necesidades diarias del metal; Hentze *et al.* 2010, Pantopoulos *et al.* 2012). Durante la inflamación, la generación de citoquinas inflamatorias y de proteínas de fase aguda interfieren con el aporte de Fe por el macrófago, en parte a través de su influencia sobre el regulador hormonal de hierro, la hepcidina lo que trae como consecuencia la acumulación de hierro en la ferritina de los macrófagos y la disminución de hierro disponible para la eritropoyesis (Thomas y Thomas 2005; Fig. 5).



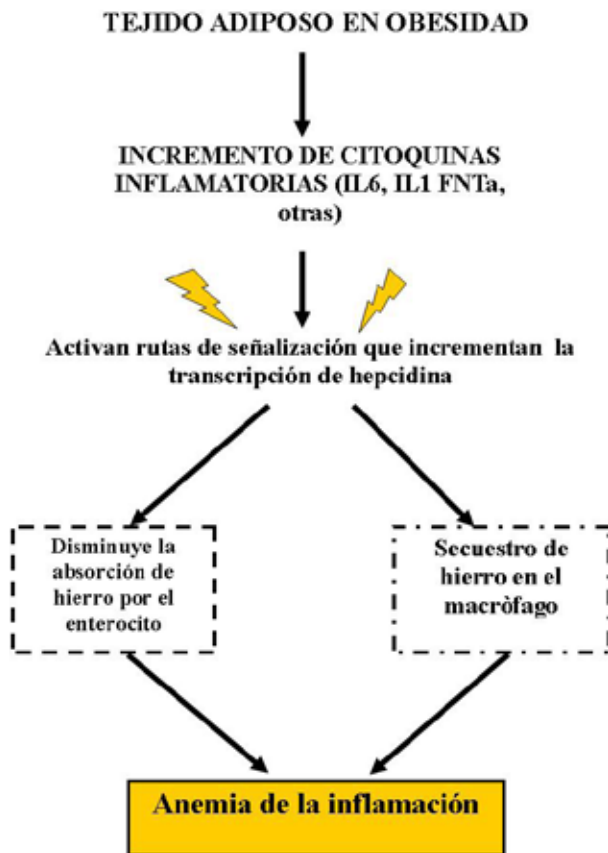


Figura 5. Esquema que representa el mecanismo por medio del cual la obesidad afecta el metabolismo sistémico del hierro, generando la anemia de la inflamación.

En el caso de una infección, enfermedad autoinmune o cáncer, las células inmunes activadas producen citoquinas inflamatorias tales como la interleuquinas IL-1, IL-6, o IL-22 que inducen la formación de hepcidina (Vecchi *et al.* 2009, Armitage *et al.* 2011). Lo cual reduce la absorción de hierro de la dieta ya que la hepcidina reduce la expresión de ferroportina de los enterocitos y de los macrófagos reduciéndose el hierro circulatorio. Ese mecanismo es una estrategia de defensa del organismo para reducir el hierro disponible para que sea utilizado por el organismo invasor para su proliferación.

En resumen, La pérdida de la homeostasis de hierro se relaciona con los procesos inflamatorios, la inmunidad y ambos con la disfunción mitocondrial. Enfermedades tan diversas como la diabetes, enfermedades cardiovasculares y desórdenes neurodegenerativos están asociados con la pérdida de la homeostasis de hierro y todos son procesos que generan inflamación crónica y estrés oxidativo.

## Hierro y obesidad

La obesidad y el sobrepeso se han convertido en una pandemia mundial y se asocian con el desarrollo de la diabetes mellitus tipo II, las enfermedades cardiovasculares, enfermedad del hígado graso, desórdenes neurodegenerativos y respiratorios y desarrollo del cáncer.

Desde que fue identificada la leptina, hormona con potente efecto anoréxico secretada por el tejido adiposo, se redefinió este tejido como un órgano endocrino (Zhang *et al.* 1994). Se han identificados otras adipoquinas reguladoras de los lípidos sistémicos y de la homeostasis de la glucosa llevando a una red de señalización de este tejido con órganos metabólicos como el hígado, músculo y páncreas, así como el sistema nervioso central. Cuando se rompe el equilibrio entre las rutas de señalización dirigidas por estas adipoquinas se daña la comunicación entre los órganos y por consiguiente se generan anomalías metabólicas en los órganos involucrados (Trujillo y Scherer 2006, Rosen y Spiegelman 2006, Antuna-Puente *et al.* 2008).

Algunas de las citoquinas proinflamatorias secretadas por el tejido adiposo son la IL6 y FNTα con esta última citoquina se demostró una relación entre la obesidad y la inducción de la resistencia a la insulina, este hallazgo permitió hacer una asociación entre obesidad e inflamación y permitió definir el concepto de inflamación metabólica (Hotamisligil *et al.* 1993, Hotamisligil 2006, Cao 2014).

Por otro lado, existen evidencias que la obesidad induce infiltración de macrófagos en el tejido adiposo lo cual también puede explicar la fuente de citoquinas bajo esta condición y la relación entre sistema inmune y adipocitos en un órgano metabólico (Exley *et al.* 2014). Los macrófagos residentes en el tejido adiposo son de dos tipos uno que secreta citoquinas proinflamatorias (M1) tales como FNTα y IL-6, iNOS y ROS; y el otro (M2) que produce receptores antagonistas de IL-10 y IL-1 y arginasa-1 (Gordon 2003). La obesidad induce un cambio en este subtipo de células a favor de los M1 conduciendo al aumento de la producción de citoquinas proinflamatorias y de EROs (Lumeng *et al.* 2007).

Adicionalmente, se ha demostrado una cerrada interacción física y de señalización celular entre células metabólicas e inmunes en todos los órganos metabólicos de sujetos obesos lo que indica que la inflamación



metabólica es un rasgo universal y es la base patológica de la disfunción inducida por la obesidad. Por otro lado, la expansión del tejido adiposo en el desarrollo de la obesidad puede causar hipoxia lo que induce una angiogénesis compensatoria; como consecuencia de esto, los macrófagos incrementan en el sitio de angiogénesis para facilitar la vascularización y para remover las células apoptóticas (Cinti *et al.* 2005, Strissel *et al.* 2007, Pang *et al.* 2008). Un proceso similar se ha demostrado en la generación del hígado graso donde las células de Kupffer secretan FNT- $\alpha$  eIL-6 para regenerarlo (Abshagen *et al.* 2007).

Mientras que la acumulación de evidencias apoyan un efecto negativo global de la inflamación por obesidad en el metabolismo energético, debe tenerse en cuenta que la inflamación metabólica inicialmente puede ser un mecanismo de defensa asociada con la expansión o reparación del tejido adiposo necesaria para que el cuerpo se adapte al exceso de energía y para mantener la homeostasis metabólica (Cani *et al.* 2007, McGuinness 2013).

El proceso inflamatorio crónico inducido por la obesidad incrementa la producción de hepcidina por el hígado y en el tejido adiposo vía la IL-6 (Gotardo *et al.* 2013), lo cual disminuye la disponibilidad de hierro sistémico por su secuestro en el macrófago y en otras células que incluyen el hepatocito, el adipocito y células beta del páncreas y la disminución de la absorción del metal en la dieta por el enterocito, conduciendo a la anemia por la inflamación proceso que genera estrés oxidativo conduciendo a daño en los órganos involucrados.

Por otro lado, se ha demostrado que dietas con alta sobrecarga de hierro conllevan a la disminución de la adiponectina, hormona relacionada con la sensibilidad a la insulina y con la regulación de hierro en el adipocito, el empleo de los niveles de hierro para regular esta hormona sugiere un rol importante de los adipocitos en la coordinación de la respuesta metabólica general del organismo a la disponibilidad de hierro (Scott *et al.* 2012).

La expresión por parte de los adipocitos de proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro tales como la ferroportina, HFE, RTf2 y la hepcidina indican un papel importante del hierro en el metabolismo de los lípidos, en la biología de los adipocitos y en el desarrollo de la obesidad (Simcox y McClain 2013).

## Perspectivas

En la última década se ha avanzado mucho en el conocimiento de las moléculas involucradas en la homeostasis del hierro y de sus implicaciones en muchas patologías, caso particular es la hormona hepcidina; se están desarrollando compuestos agonistas (para tratar enfermedades de sobrecarga de hierro como la hemacromatosis y las talasemias) o antagonistas de esta hormona (para tratar anemia de la inflamación). También se están desarrollando drogas que interfieran con la producción de citoquinas inflamatorias las cuales activan las rutas de señalización para la producción de hepcidina (Fung y Nemeht 2013).

Por otro lado, se ha propuesto que el aumento en la biodisponibilidad de hierro como resultado de la amplia fortificación de alimentos a nivel mundial ha contribuido con la epidemia de obesidad, (Singani y Dhio 2013). Se hace necesario estudios que aporten más evidencias para apoyar esta hipótesis y así tomar decisiones que permitan controlar la suplementación de hierro en los alimentos de la población en general y solo considerarse en poblaciones que así lo requieran

Por último, sería bien importante indagar sobre el impacto epigenético de la nutrición maternal con hierro en el estado metabólico de su progenie. La captura de hierro maternal puede impactar la programación metabólica de su descendencia definiendo el fenotipo dependiendo del periodo de alteración del estatus de hierro y la dirección del cambio (alto o bajo hierro).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABSHAGEN K, EIPEL C, KALFF JC, MENDER MD, VOLLMAR B. 2007 Loss of NF-kappa B activation in Kupffer cell-depleted mice impairs liver regeneration after partial hepatectomy. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 292(6):G1570-G1577.
- AGARWAL R. 2007. Non hematological benefits of iron. *Am. J. Nephrol.* 27(6):565-571.
- AJIOKA RS, PHILLIPS JD, KUSHNER JP. 2006. Biosynthesis of heme in mammals. *Biochim. Biophys. Acta.* 1763(7):723-736.
- ALLISON MB, MYERS MG Jr. 2014. 20 Years of Leptin: Connecting leptin signaling to biological function *J. Endocrinol.* 223(1):T25-T35.

- ANDERSON GJ, VULPE CD. 2009. Mammalian iron transport. *Cell. Mol. Life Sci.* 66(20):3241-3261.
- ANDERSON SA, NIZZI CP, CHANG YI, DECK KM, SCHMIDT PJ, GALY B, DAMNERN SAWAD A, BROMAN AT, KENDZIORSKI C, HENTZE MW, FLEMING MD, ZHANG J, EISENSTEIN RS. 2013. The IRP1-HIF-2 $\alpha$  axis coordinates iron and oxygen sensing with erythropoiesis and iron absorption. *Cell Metab.* 17(2):282-290.
- ANTUNA-PUENTE B, FEVE B, FELLAHI S, BASTARD JP. 2008. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes Metab.* 34(1):2-11.
- ARMITAGE AE, EDDOWES LA, GILEADI U, COLE S, SPOTTISWOODE N, SELVAKUMAR TA, HO LP, TOWNSEND AR, DRAKESMITH H. 2011. Hepcidin regulation by innate immune and infectious stimuli. *Blood.* 118(15):4129-4139.
- ATANASIU V, MANOLESCU B, STOIAN I. 2007. Hepcidin-central regulator of iron metabolism. *Eur. J. Haematol.* 78(1):1-10.
- BAO G, CLIFTON M, HOETTE TM, MORI K, DENG SX, QIU A, VILTARD M, WILLIAMS D, PARAGAS N, LEETE T, KULKARNI R, LI X, LEE B, KALANDADZE A, RATNER AJ, PIZARRO JC, SCHMIDT-OTT KM, LANDRY DW, RAYMOND KN, STRONG RK, BARASCH J. 2010. Iron traffics in circulation bound to a siderocalin (Ngal)-catechol complex. *Nat. Chem. Biol.* 6(8):602-609.
- BROWNLIE T, UTERMÖHLEN V, HINTON, HAAS JD. 2004. Tissue iron deficiency without anemia impairs adaptation in endurance capacity after aerobic training in previously untrained women. *Am. J. Clin. Nutr.* 79(3):437-443.
- CADIOU H, MCNAUGHTON PA. 2010. Avian magnetite-based magnetoreception: a physiologist's perspective. *J. R. Soc. Interface.* 7(2):S193-205.
- CANI PD, AMAR J, IGLESIAS MA, POGGI M, KNAUF C, BASTELICA D, NEYRINCK AM, FAVA F, TUOHY KM, CHABO C, WAGET A, DELMÉE E, COUSIN B, SULPICE T, CHAMONTIN B, FERRIÈRES J, TANTI JF, GIBSON GR, CASTEILLA L, DELZENNE NM, ALESSI MC, BURCELIN R. 2007. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes.* 56(7):1761-1772.
- CAO H. 2014. Adipocytokines in Obesity and Metabolic Disease. *J. Endocrinol.* 220(2):T47-T59.
- CHENG Z, RISTOW M. 2013. Mitochondria and metabolic homeostasis. *Antioxid. Redox Signal.* 19(3):240-242.
- CINTI S, MITCHELL G, BARBATELLI G, MURANO I, CERESI E, FALOIA E, WANG S, FORTIER M, GREENBERG AS, OBIN MS. 2005. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J. Lipid Res.* 46(11):2347-2355.
- COOPERMAN SS, MEYRON-HOLTZ EG, OLIVIERRE-WILSON H, GHOSH MC, MCCONNELL JP, ROUAULT TA. 2005. Microcytic anemia, erythropoietic protoporphyria and neurodegeneration in mice with targeted deletion of iron regulatory protein 2. *Blood.* 106(3):1084-1091.
- DE-LIANG Z, GHOSH MC, ROUAULT TA. 2014. The physiological functions of iron regulatory proteins in iron homeostasis an update. *Front. Pharmacol.* 5(1):124-136.
- DEVIREDDY LR, HART DO, GOETZ DH, GREEN MR. 2010. A mammalian siderophore synthesized by an enzyme with a bacterial homolog involved in enterobactin production. *Cell.* 141(6):1006-1017.
- EXLEY M, HAND LE, O'SHEA D, LYNCH L. 2014. The interplay between the immune system and adipose in obesity. *J. Endocrinol.* 223(2):R41-48.
- FUNG E, NEMETH E. 2013. Manipulation of the hepcidin pathway for therapeutic purposes. *Haematologica.* 98(11):1667-1676.
- GANZ T, NEMETH E. 2012. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim. Biophys. Acta.* 1823(9):1434-1443.
- GHOSH MC, ZHANG DL, JEONG SY, KOVTUNOVYCH G, OLLIVIERRE-WILSON H, NOGUCHI A, TU T, SENECAI T, ROBINSON G, CROOKS DR, TONG WH, RAMASWAMY K, SINGH A, GRAHAM BB, TUDER RM, YU ZX, ECKHAUS M, LEE J, SPRINGER DA, ROUAULT TA. 2013. Deletion of iron regulatory protein 1 causes polycythemia and pulmonary hypertension in mice through translational

- depression of HIF2 $\alpha$ . *Cell Metab.* 17(2):271-281.
- GKOUVATSOS K, PAPANIKOLAOU G, PANTOPOULOS K. 2012. Regulation of iron transport and the role of transferrin. *Biochim. Biophys. Acta.* 1820(3):88-202.
- GORDON S. 2003. Alternative activation of macrophages. *Nat. Rev. Immunol.* 3(1):23-35.
- GOTARDO ÉM, DOS SANTOS AN, MIYASHIRO RA, GAMBERO S, ROCHA T, RIBEIRO ML, GAMBERO A. 2013. Mice that are fed a high-fat diet display increased hepcidin expression in adipose tissue. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 59(5):454-461.
- GRODICK MA, SEGAL HM, ZWANG TJ, BARTON JK. 2014. DNA-mediated signaling by proteins with 4Fe-4S clusters is necessary for genomic integrity. *J. Am. Chem. Soc.* 136(17):6470-6478.
- HAMMERMAN PS, FOX CJ, THOMPSON CB. 2004. Beginnings of a signal transduction pathway for bioenergetic control of cell survival. *Trends Biochem. Sci.* 29(11):586-592.
- HENTZE MW, MUCKENTHALER MU, ANDREWS NC. 2004. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell.* 117(3):285-297.
- HENTZE MW, MUCKENTHALER MU, GALY B, CAMASCHELLA C. 2010. Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. *Cell.* 142(1):24-38.
- HOLLAND RA, KIRSCHVINK JL, DOAK TG, WIKELSKI M. 2008. Bats use magnetite to detect the earth's magnetic field. *Plos ONE.* 3(2):e1676-1681.
- HOTAMISLIGIL GS. 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 444:860-867.
- HOTAMISLIGIL GS, SHARGILL NS, SPIEGELMAN BM. 1993. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 259(5091):87-91.
- JOHNSON EE, WESSLING-RESNICK M. 2012. Iron metabolism and the innate immune response to infection. *Microbes Infect.* 14(3):207-216.
- LEIDGENS S, BULLOUGH KZ, SHI H, LI F, SHAKOURY-ELIZEH M, YABE T, SUBRAMANIAN P, HSU E, NATARAJAN N, NANDAL A, STEMMLER TL, PHILPOTT CC. 2013. Each member of the poly-r(C)-binding protein 1 (PCBP) family exhibits iron chaperone activity toward ferritin. *J. Biol. Chem. J.* 288(24):17791-17802.
- LILL R. 2009. Function and biogenesis of iron-sulphur proteins. *Nature.* 460(7257):831-838.
- LILL R, RAFALDUTKIEWICZ H, ELSÄSSER P, HAUSMANN A, NETZ D, PIERIK AJ, STEHLING O, URZICA E, MÜHLENHOFF U. 2006. Mechanisms of iron-sulfur protein maturation in mitochondria, cytosol and nucleus of eukaryotes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1763(7):652-667.
- LINDER MC. 2013. Mobilization of stored iron in mammals: a review. *Nutrients.* 5(10):4022-4050.
- LUMENG CN, BODZIN JL, SALTIEL AR. 2007. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.* 117(1):175-184.
- LUNOVA M, GOEHRING C, KUSCUOGLU D, MUELLER K, CHEN Y, WALTHER P, LEIDGENS S, BULLOUGH KZ, SHI H, LI F, SHAKOURY-ELIZEH M, YABE T, SUBRAMANIAN P, HSU E, NATARAJAN N, NANDAL A, STEMMLER TL, PHILPOTT CC. 2014. Each member of the poly-r(C)-binding protein 1 (PCBP) family exhibits iron chaperone activity toward ferritin. *J. Biol. Chem. J.* 288(24):17791-17802.
- MCFADDEN J. 2007. Conscious Electromagnetic Field Theory. *NeuroQuantology.* 5(3):262-270.
- NAIRZ M, HASCHKA D, DEMETZ E, WEISS G. 2014. Iron at the interface of immunity and infection. *Front Pharmacol.* 16(5):152-162.
- PANG C, GAO Z, YIN J, ZHANG J, JIA W, YE J. 2008. Macrophage infiltration into adipose tissue may promote angiogenesis for adipose tissue remodeling in obesity. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 295(2):E313-E322.
- PANTOPOULOS K, PORWAL SK, TARTAKOFF A, DEVIREDDY L. 2012. Mechanisms of mammalian iron homeostasis. *Biochemistry.* 51(29):5705-5724.
- PATTERSON AJ, BROWN WJ, POWERS JR, ROBERTS DC.

2000. Iron deficiency, general health and fatigue: results from the Australian Longitudinal Study on Women's Health. *Qual. Life Res.* 9(5):491-497.
- POPLAWSKA-DOMASZEWICZ K, FLORCZAK-WYSPIAŃSKA J, KOZUBSK W. 2014. Update on neurodegeneration with brain iron accumulation *Neurol. Neurochir. Pol.* 48(3):206-212.
- RENAULT TT, CHIPUK JE. 2013. Inter-organellar communication with mitochondria regulates both the intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis. *Commun. Integr. Biol.* 6(2):e22872.
- ROSEN ED, SPIEGELMAN BM. 2006. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature.* 444(7121):847-853.
- ROUAULT TA, TONG WH. 2008. Iron-sulfur cluster biogenesis and human disease. *Trends Genet.* 24(8):398-407.
- SANGANI RG, GHIO AJ. 2013. Nutrients. Iron, human growth, and the global epidemic of obesity. *Nutrients.* 5(10):4231-4249
- SCOTT JS, GAO Y, SIMCOX JA, HUANG J, THORUP D, JONES D, COOKSEY RC, GABRIELSEN D, ADAMS TD, HUNT SC, HOPKINS PN, CEFALU WT, MCCLAIN DA. 2012. Adipocyte iron regulates adiponectin and insulin sensitivity. *J. Clin. Invest.* 122(10):3529-3540.
- SHEFTEL A, STEHLING O, LILL R. 2010. Iron-sulfur proteins in health and disease. *Trends Endocrinol. Metab.* 21(5):302-314.
- SIMCOX JA, MCCLAIN DA. 2013. Iron and diabetes risk. *Cell Metab.* 17(3):329-341.
- SITAR ME, AYDIN S, CAKATAY U. 2013. Human serum albumin and its relation with oxidative stress. *Clin. Lab.* 59(9-10):945-952.
- STEINBICKER AU, UMOCKENTHALER M. 2013. Out of Balance-Systemic Iron Homeostasis in Iron-Related Disorders. *Nutrients.* 5(8):3034-3061.
- STRISSEL KJ, STANCHEVA Z, MIYOSHI H, PERFIELD ND, DEFURIA J, JICK Z, GREENBERG AS, OBIN MS. 2007. Adipocyte death, adipose tissue remodeling, and obesity complications. *Diabetes.* 56(12):2910-2918.
- THEIL EC. 2011. Ferritin protein nanocages use ion channels, catalytic sites, and nucleation channels to manage iron/oxygen chemistry. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 15(2):304-311.
- THOMAS C, THOMAS L. 2005. Anemia of chronic disease: pathophysiology and laboratory diagnosis. *Lab. Hematol.* 11(1):14-23.
- TOLOSANO E, ALTRUDA F. 2002. Hemopexin: structure, function, and regulation. *DNA Cell Biol.* 21(4):297-306.
- TRUJILLO ME, SCHERER PE. 2006. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endocr. Rev.* 27(7):762-778.
- VECCHI C, MONTOSI G, ZHANG K, LAMBERTI I, DUNCAN SA, KAUFMAN RJ, PIETRANGELO A. 2009. ER stress controls iron metabolism through induction of hepcidin. *Science.* 325(5942):877-880.
- WACHTERSCHAUER G. 1990. Evolution of the first metabolic cycles (chemoautotrophy/reductive citric acid cycle/origin of life/pyrite). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87(1):200-204.
- WEISBERG SP, MCCANN D, DESAI M, ROSENBAUM M, LEIBEL RL, FERRANTE AW Jr. 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 112(12):1796-1808.
- WEISS G, GOODNOUGH LT. 2005. Anemia of chronic disease. *N. Engl. J. Med.* 352(1):1011-1023.
- WEISS G, SCHEIT G. 2013. Anaemia in inflammatory rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 9(4):205-215.
- WILKINSON N, PANTOPOULOS K. 2013. IRP1 regulates erythropoiesis and systemic iron homeostasis by controlling HIF2 $\alpha$  mRNA translation. *Blood.* 122(9):1658-1668.
- WILKINSON N, PANTOPOULOS K. 2014. The IRP/IRE system in vivo: insights from mouse models *Front. Pharmacol.* 5(1):176-183.
- WILSON MT, REEDER BJ. 2008. Oxygen-binding haemproteins. *Exp. Physiol.* 93(1):128-132.
- WILTSCHKO W, WILTSCHKO R. 2005. Magnetic orientation

- and magnetoreception in birds and other animals. *J. Comp. Physiol. A. Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.* 191(8):675-693.
- XU H, BARNES GT, YANG Q, TAN G, YANG D, CHOU CJ, SOLE J, NICHOLS A, ROSS JS, TARTAGLIA LA, CHEN H. 2003. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 112(12):1821-1830.
- YE H, ROUAULT TA. 2010. Human iron-sulfur cluster assembly, cellular iron homeostasis, and disease. *Biochemistry.* 49(24):4945-4956.
- YE J, MCGUINNESS OP. 2013. Inflammation during obesity is not all bad: evidence from animal and human studies. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 304(5):E466-477.
- ZHANG DL, GHOSH MC, ROUAULT TA. 2014. The physiological functions of iron regulatory proteins in iron homeostasis -an update. *Front. Pharmacol.* 5(1):124-132.
- ZHANG Y, PROENCA R, MAFFEI M, BARONE M, LEOPOLD L, FRIEDMAN JM. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 372(6505):425-432.